

RESONANZTHROMBOGRAPHIE:

Eine neue Möglichkeit
zur Überwachung der Effektivität
von Thrombozytentransfusionen

Sven Tomas Schaal

*Ess
München
1985*





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554815_0096

Aus der Medizinischen Klinik III am Klinikum Großhadern
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. W. Wilmanns

RESONANZTHROMBOGRAPHIE:

Eine neue Möglichkeit zur Überwachung der Effektivität
von Thrombozytentransfusionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Sven Tomas Schaal

aus

Hamburg

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Erhard Hiller
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. W. Wilmanns
Dekan:	Prof. Dr. med. Wolfgang Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	9. April 1985

Für die Überlassung des Themas und
sein Interesse an der vorliegen-
den Arbeit danke ich

Herrn Prof. Dr. E. Hiller

ganz herzlich.

Meinen Dank möchte ich ebenfalls
der medizinisch-technischen Assisten-
tin Frau B. Reinhard für die prak-
tische Unterweisung in den notwen-
digen Laborverfahren aussprechen.

Die Resonanzthrombographie - eine neue Möglichkeit zur Überwachung von Thrombozytentransfusionen

1. Einführung

- 1.1. Geschichte der Thrombozytentransfusion
- 1.2. Die Funktion der Thrombozyten in der Hämostase
 - 1.2.1. Anatomie der Thrombozyten
 - 1.2.2. Funktion der Thrombozyten
 - 1.2.2.1. Adhäsion
 - 1.2.2.2. Aggregation
 - 1.2.2.3. Sekretion
 - 1.2.2.4. Retraktion
- 1.3. Bedeutung der Thrombozytentransfusion heute
- 1.4. Messungen am sich bildenden Blutgerinnsel
- 1.5. Ziel unserer Untersuchungen (Fragestellung)

2. Materialien und Methoden

- 2.1. Der Resonanzthrombograph (RTG)
- 2.2. Aufbau und Funktion
- 2.3. Bedeutung des Resonanzeffektes
- 2.4.1. Testansatz bei Messungen am Resonanzthrombographen
- 2.4.2. Meßparameter
- 2.5. Reinigung und Störanfälligkeit
- 2.6.1. Thrombelastographie (TEG)
- 2.6.2. Testansatz bei Messungen am Thrombelastographen
- 2.7. Unterschied der beiden Meßverfahren
- 2.8. Thrombozytenzählung
- 2.9. Gerinnungsglobaltests
 - 2.9.1. Prothrombinzeit nach Quick
 - 2.9.2. Partielle Thromboplastinzeit (PTT)
 - 2.9.3. Fibrinogenbestimmung nach Clauss
 - 2.9.4. Subaquale Blutungszeit nach Marx

- 2.10. Normalpersonen
- 2.11. Patientengut

3. Ergebnisse

- 3.1. Erstellung der Normalwerte
 - 3.1.1. Interpretation
 - 3.1.2. Festsetzung des Normalwertebereiches
- 3.2. Abhängigkeit der Thrombozytenzahl vom deszendierenden Schenkel der RTG - Kurve
- 3.3. Abhängigkeit der Thrombozytenzahl von den Plättchenschenkelparametern
- 3.4. Thrombozytopenien unterschiedlicher Ätiologie
- 3.5. Thrombozytentransfusionen
 - 3.5.1. Korrelation der Thrombozytenzahl vor und nach Transfusion
 - 3.5.2. Korrelation des RTG-Parameters " P_R " vor u. nach Transfusion
 - 3.5.3. Korrelation des TEG-Parameters " m_a " vor u. nach Transfusion
- 3.6. Plasmatische Gerinnungsparameter
- 3.8. Falldemonstrationen (Kasuistiken)

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

7. Lebenslauf

1. Einführung

1.1. Geschichte der Thrombozytentransfusion

Im Jahre 1949 fand man in der Literatur noch keinen Hinweis auf die Möglichkeit einer isolierten Thrombozytentransfusion; hämorrhagische Diathesen wurden damals vorzugsweise mit Vollblutkonserven therapiert. So erscheint in einer Arbeit von KEYNES (1949) das Wort Thrombozytentransfusion nicht einmal im Inhaltsverzeichnis. (14,15)

MOLLISON erwähnte 1951 und 1956 die Möglichkeit der Thrombozytentransfusion - doch wurde weiterhin als Methode der Wahl bei hämorrhagischen Diathesen die Frischblutkonserve angewandt.(27)

Erst im Jahre 1961 ging MOLLISON im "American Journal of Blood Bancs - Technical Manual" auf die Thrombozytentransfusion selbst ein : "Thrombozytentransfusionen werden am besten mit Spritzen ausgeführt und stammen vorzugsweise von Spendern, die an Polyzytämie erkrankt sind ". (15,27)

Die ersten "Thrombozytentransfusionen" glichen somit der Vollblutübertragung und wurden entweder durch arterio-venöse oder durch venös-venöse Transfusion vom Spender zum Empfänger vollzogen.(15)

In den fünfziger Jahren wurden durch silikonisierte Glasflaschen, welche die Aggregation der Thrombozyten verhindern sollten und durch die in der Entwicklung befindliche "differenzierte Zentrifugation" die ersten Grundlagen für die Gewinnung von "plättchenreichem Plasma" (PRP) und "Plättchenkonzentraten" (PC) geschaffen. Damals wurde es als wesentlich erachtet, die gewonnenen, isolierten Thrombozyten sofort ausreichend

zu kühlen, um eine ausreichende Funktion nach Transfusion zu gewährleisten.(15)

Die Haltbarkeit bei höheren Temperaturen, wie zum Beispiel Zimmertemperatur (22°C), wurde für ungünstig erachtet.

Wir wissen heute, daß die Kühlung der Blutplättchen nicht die ideale Methode zur Lagerung von Thrombozyten ist, aber dennoch war die Verwendung dieser so gekühlten Thrombozyten überraschenderweise in vielen Fällen erfolgreich.(15)

Ein anderes Problem bei der Gewinnung und Lagerung von Thrombozyten war die immer wieder beobachtete Aggregation in vitro. Durch die Verwendung von EDTA (Näthylldiaminotetraessigsäure) wurde die Aggregation weitestgehend ausgeschaltet, so daß von nun an EDTA als das "Antikoagulans" für Thrombozyten zur Anwendung kam.

Eine längere Lagerung der sehr leicht verletzlichen und nur gekühlt lagerbaren Thrombozyten war jedoch nicht möglich.(15)

In einer dritten Phase in den sechziger Jahren wurde nach und nach die bisher verwendete Glasflasche gegen Kunststoffbeutel zur Aufbewahrung der isolierten Thrombozyten ausgetauscht. EDTA verschwand rasch aus der Anwendung - es wurde eine neue Substanz, ACD (= anticoagulant Acid, Citrate, Dextrose), als "Antikoagulans" und gleichzeitig als Agens zur Verlängerung der Überlebenszeit der Thrombozyten post transfusionem verwendet.(15)

Die Lagerungseigenschaften der Thrombozyten waren wissenschaftlich immer noch nicht geklärt; man verfuhr nach dem Leitsatz: "Je früher transfundiert wird, um so besser ist die zu erwartende Funktionfähigkeit der Thrombozyten in vivo!"(15)

Zur selben Zeit stieg die klinisch-therapeutische Anwendung von Thrombozytentransfusionen rasch an, und die Nachfrage nach Thrombozytenkonzentraten wurde größer.

Neue Technologien, die Thrombozytopherese und die Zellseparation kamen zur Anwendung, so daß der große Bedarf an Thrombozytenkonzentraten auf diese Weise gedeckt werden konnte.

In der Frage der Haltbarkeit von Thrombozytenkonzentraten wurden zwar deutliche Fortschritte erzielt, jedoch waren die Meinungen im wesentlichen in zwei Lager gespalten; einerseits wurde die Aufbewahrung bei 4°C, andererseits bei Raumtemperatur (22°C) als vorteilhafter angesehen. Heute noch ruft diese Frage der Aufbewahrung Diskussionen hervor, obwohl erkannt wurde, daß die Lagerung bei Raumtemperatur die Thrombozytenfunktion am vollständigsten erhält. (15)

Durch häufige Thrombozytentransfusionen, wie wir sie heute durchführen, kamen im Laufe der Zeit auch neue Fragestellungen im Zusammenhang mit der Plättchentransfusion auf. Eine sehr wichtige Frage stellt sich immer wieder dann, wenn Transfusionen ohne klinisch erkennbaren Erfolg waren. Das Problem der Histokompatibilität von Fremdthrombozyten wurde als entscheidend für den Erfolg oder Mißerfolg von Thrombozytentransfusionen erkannt.

Zusammenfassend sind die Verfahren im Umgang mit den Thrombozyten, besonders hinsichtlich der Lagerung, heute noch nicht vereinheitlicht; dennoch konnten wichtige Erfolge in der Anwendung von Thrombozyten verzeichnet und damit auch Sicherheit im Umgang mit Blutplättchen gewonnen werden. Dies gilt im besonderen für die Herstellung des so bedeutungsvollen Blutbestandteils. (15)

1.2. Die Thrombozytenfunktionen im Rahmen der Hämostase

Die Hypothese von WRIGHT aus dem Jahre 1906, wonach die Thrombozyten aus dem Zytoplasma von Megakaryozyten des Knochenmarks entstehen, ist heute allgemein anerkannt und Grundlage für unser Wissen über die Thrombozytenentstehung.(33)

1.2.1. Thrombozytenanatomie

Die Thrombozyten sind lebensfähige, kernlose Zellfragmente. Sie entstehen aus reifen Megakaryozyten des Knochenmarks durch Zerfall.

Blutplättchen sind 2-4 μm im Durchmesser groß; ein Megakaryozyt dagegen ca. 50-100 μm im Durchmesser. Eine Schätzung besagt, daß aus einer Mutterzelle ca. 4000 Thrombozyten entstehen können.(26)

Die Hauptaufgabe der Thrombozyten liegt in der Hämostase (primäre Blutgerinnung).

Im Kapillarblut erscheinen die Thrombozyten als runde oder ovale Scheibchen, in vitro können sie in unphysiologischem Milieu Kugelform annehmen, wobei sich zudem zahlreiche Fortsätze auf ihrer Oberfläche ausbilden; die Plättchen erscheinen dann in einer bizarren Vielfalt von Formen.

Beim Ausstrich auf unbenetzbare Oberflächen entwickeln die Thrombozyten zahlreiche Pseudopodien, die z. B. beim Ausstrich auf dem Glasobjektträger nicht gesehen werden.(23,26)

Betrachtet man die Ultrastruktur der Thrombozyten, so sind sie von einer 5-8 nm dicken Membran umgeben, die ca. 50-100 ovale Granula mit einem Durchmesser von 0,25 μm einschließt. Weiterhin findet man "christa-arme" Mitochondrien und im Hyaloplasma zahlreiche Tubuli und Mikrovesikel.(26)

1.2.2. Funktion der Thrombozyten

1.2.2.1. Adhäsion

Durchtrennt man eine Arteriole in vivo, so erkennt man unter dem Mikroskop, wie sich innerhalb von Sekunden im Bereich der Schnittkanten zahlreiche Thrombozyten anlagern.

Nach wie vor ist der genaue Mechanismus der Anlagerung ungeklärt. Unter anderem werden ursächlich die elektrische Ladung und die Adhäsion durch selektive Affinität der Thrombozyten an Kollagen diskutiert.

ZUCKER und BORRELLI beschrieben 1965 das Kollagen als die entscheidende Gewebskomponente der Adhäsion; Kollagenase konnte diese Funktion des Kollagens zerstören.

Die Adhäsion wird nur bei defektem Endothel beobachtet. (26) Das normale, intakte Endothel der Blutgefäße bewirkt keine Plättchenadhäsion. Nach neueren Untersuchungen produzieren Endothelzellen ein Prostaglandin (Prostacyclin = PGI_2) welches die Adhäsion unterbindet. (30)

Die Plättchenadhäsion ist an intaktem Endothel nicht beobachtet worden. Demzufolge ist die Endothelläsion für dieses Geschehen ursächlich. Subendotheliale Bestandteile, wie Kollagen, Elastin, Basalmembranen, Fibronektin und Bestandteile der Grundsubstanzen der Bindegewebe (Glykosaminoglykane) lösen eine Adhäsion aus. Allerdings ist die relative Bedeutung dieser Substanzen für die Adhäsion nicht genau bekannt, obgleich man weiß, daß Kollagen eine wichtige Rolle spielt. (30,32)

Für die Plättchenadhäsion scheint ein weiteres Protein, der sogenannte v. Willebrand-Faktor eine entscheidende Rolle zu spielen. Dieser Faktor, der großmolekulare

Anteil des aus zwei Proteinen bestehenden Plasmagerinnungsfaktors VIII, ist ubiquitär vorhanden.(9) Er dient gleichermaßen als Brücke zwischen Blutplättchen und Gefäßwand.

1.2.2.2.Aggregation

Im Anschluß an die Adhäsion kommt es zur Aggregation der Thrombozyten im Bereich der Endothelläsion. Hierbei lagern sich die Thrombozyten zahlreich aneinander, bilden große Aggregate und schließlich entsteht das Thrombozytengerinnsel.

Durch eine Reihe aufwendiger Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß bei der Aggregation zahlreiche Substanzen (Mediatoren) eine Rolle spielen, wie z. B. Thrombin, Adrenalin und Noradrenalin, sowie Kollagen. Diese Stoffe reagieren mit den Thrombozyten durch Bindung an die Thrombozytenmembran.

Man unterscheidet zwei Formen der Aggregation:

1.) Aggregation 1. Ordnung

sie ist eine direkte Folge der Thrombozytenstimulation, ist reversibel und nicht der Thrombozytensekretion verbunden.

2.) Aggregation 2. Ordnung

sie folgt auf die Aggregation 1. Ordnung, ist irreversibel und obligatorisch mit der Plättchensekretion verbunden. Die Aggregation 2. Ordnung ist überwiegend durch plättcheneigenes ADP (Adenosindiphosphat) und durch thrombozyteneigene Prostaglandine ausgelöst. (30)

ADP stimuliert schon in minimalen Konzentrationen

(Mikromol-Bereich) die Plättchenaggregation; ADP entstammt wahrscheinlich den verletzten Geweben und wird zusätzlich auch von den aktivierten Plättchen selbst sezerniert.

Wie BORN (1965) beobachtete, kann ADP an der Thrombozytenmembran in gewissen Arealen gebunden werden; BENNETT und ADLER berichten über spezifische Membranproteine der Thrombozyten, die möglicherweise Rezeptoren für die ADP-Bindung darstellen.

Thrombin, eine weitere für die Aggregation wichtige Substanz wird mit hoher Affinität an die Thrombozytenmembran gebunden; auch hier sind spezifische Bindungsstellen, zahlreicher als für ADP, zur Anlagerung vorhanden. Die Affinität des Thrombins zur Plättchenmembran steigt, je höher die Thrombinkonzentration ist. Thrombin spielt also nicht nur beim plasmatischen Gerinnungsablauf eine Rolle (proteolytisches Enzym), sondern ist zusätzlich ein wichtiger Mediator in der Aggregation der Thrombozyten.(30)

Eine Reihe weiterer Substanzen, die Epinephrine (Noradrenalin und Adrenalin) und auch Kollagen wirken aggregationsauslösend; Noradrenalin wird an Alpha-2-Rezeptoren der Plättchenmembran gebunden, Kollagen wirkt als hochaktives Agens, indem es zur Degranulierung der ADP-Granula und zur Stimulation der Prostaglandinsynthese führt.

Durch die Bindung der Mediatoren ADP, Kollagen und Thrombin verändern die Thrombozyten ihre Gestalt; sie nehmen eine sphärische Form an, bilden feine Zytoplasmafortsätze aus und lagern sich so in Aggregaten zusammen.(30)

1.2.2.3. Plättchensekretion

Im Rahmen der Aggregation kommt es zur Degranulierung der Thrombozytenvesikel. Diese Freisetzungsreaktion wird durch die Bindung der Mediatorsubstanzen der Aggregation an der Membran ausgelöst.

Biochemisch wirken der Mediator-Rezeptor-Komplex mit anderen Membranproteinen, die Phosphorylierung von Membranproteinen, eine Veränderung der Membranphospholipide und die Calciumfreisetzung aus der Membranbindung bei diesem Vorgang mit.

Morphologisch wird der Sekretionsvorgang durch eine Zusammenballung der Granula im Zentrum der Thrombozyten eingeleitet. Anschließend kommt es zur Degranulierung und Sekretion aus den Speicherkörperchen der Thrombozyten. Schon nach Sekunden können die verschiedenen Stoffe in der Umgebung der Plättchen nachgewiesen werden.

Welche Substanz freigesetzt wird ist von der Art und der Konzentration des gebundenen Mediators abhängig.(30)

Man unterscheidet im wesentlichen drei Arten von Speicherkörperchen elektronenmikroskopisch, die Alpha-Granula, die sog. "dense-bodies" und die Lysosomen. In den Alpha-Granula sind Albumin, Fibrinogen, Gerinnungsfaktor V und VIII R:Ag, Fibronektin, Plättchenfaktor 4 u.a. enthalten; die "dense-bodies" enthalten im wesentlichen ATP, ADP, Pyrophosphat, Serotonin und Calcium; (29,30) die Lysosomen weisen saure Hydrolasen auf.(29)

Die Thrombozyten alleine würden nur vorübergehend zur Hämostase führen. Eine sichere Blutstillung wird aber erst durch die Verstärkung des "weißen Pfropfs" mit den entstehenden Fibrinfasern erreicht. In den Plättchen sind zu diesem Zweck Substanzen enthalten, die aktiv an

der plasmatischen Gerinnung teilnehmen oder vermittelnd mitwirken. (26)

Hierbei werden oberflächenständige Gerinnungsfaktoren und Gerinnungsfaktoren in den Plättchen selbst unterschieden.

MOCKERT (1968) beschrieb die schon von DEUTSCH (1967) analysierten Plättchenfaktoren (PF) 1-4. Dabei stellt der PF 1 einen Komplex aus den bekannten Gerinnungsfaktoren I, II, VII, VIII, IX, X, XI, XII und XIII dar.

Der PF 2, im amerikanischen Schrifttum auch als "Thromboplastic Factor" beschrieben, dient der Beschleunigung der Umwandlungsreaktion des Gerinnungsfaktors I in Ia (nach MORAWITZ), d.h. die Entstehung von Fibrin aus Fibrinogen.

Der PF 3 (Lipoprotein), der in den Thrombozytengranula und an der Oberfläche der Plättchen zu finden ist, wirkt bei der Degranulation und bei der Bildung eines thrombozyteneigenen Prothrombin-Aktivators mit. (26) Unter dem PF 4 versteht man ein hochmolekulares Polypeptid, das möglicherweise die Heparinempfindlichkeit erhöhen kann und mit Fibrinogenspaltprodukten reagiert. (26)

1.2.2.4. Retraktion

Ungefähr 15% der in den Thrombozyten enthaltenen Proteine ähneln dem Aktomyosin des quergestreiften Skelettmuskels und bilden so ein kontraktiles System der Thrombozyten. Diese Kontraktion wird durch eine Polymerisation der Proteine ausgelöst, wobei Calciumionen schließlich die Kontraktion einleiten. Morphologisch entwickeln die Thrombozyten Pseudopodien, durch deren Anheftung und Zug zum Schluß die Verfestigung des Gerinnsels erfolgt. (21)

1.3. Bedeutung der Thrombozytentransfusion heute

Thrombozytentransfusionen werden heute routinemäßig bei schweren, thrombozytär bedingten Gerinnungsstörungen, wie z.B. bei Leukämien, aplastischen Anämien etc. durchgeführt. Man verabreicht Blutplättchen nicht nur bei akuten Blutungen, sondern transfundiert auch bei stark abgesunkener Thrombozytenzahl zur Verhütung von Blutungen. Verwandt werden in der Regel Thrombozytenkonzentrate, die in Blutspendezentren aus Blutkonserven von 4 Spendern gewonnen werden (1); dabei gilt die aus 500 ml Blut gewonnene Menge an Thrombozyten als eine Einheit.

Thrombozytenkonzentrate müssen bei Raumtemperatur gelagert und in möglichst frischem Zustand, d.h. innerhalb von 24 h transfundiert werden. Sie sollten schonend in den Empfängerorganismus gelangen, damit die Wirksamkeit der Transfusion auch weitgehend gewährleistet ist (1).

Günstig wäre es, HL-A identische Thrombozyten zu transfundieren, um mit hoher Sicherheit einen Transfusionserfolg zu erzielen; dies ist aus logistischen Gründen nur selten möglich und derzeit auch nur bei zu erwarteten lebensbedrohlichen Blutungen, bei bekannten Transfusionsversagen in Anwendung. Die nicht HL-A identischen Thrombozytenkonzentrate bergen das Risiko der Thrombozytenantikörperbildung in sich, die schließlich zum Transfusionsversagen führen (34).

1.4. Messungen am sich bildenden Blutgerinnsel

Die Resonanzthrombographie nach HARTERT ist das derzeitige Ergebnis einer langen Entwicklung. Zugrunde liegt die Vorstellung, die Gerinnung nicht nur zeitlich zu registrieren, sondern die Veränderungen während des Gerinnungsablaufes auch qualitativ zu erfassen und graphisch aufzuzeichnen.

Der erste Schritt in dieser Entwicklung war der Thrombelastograph nach HARTERT (1948). Im Thrombelastographen waren zwei Phasen der Gerinnung zu unterscheiden, die Reaktionszeit und die Gerinnselbildung. Durch feine mechanische Beanspruchung des Gerinnsels wurde das sich bildende Fibrinnetz einer feinen Scherbeanspruchung unterworfen. Diese Scherbeanspruchung wurde mit zunehmender Verfestigung des Substrats größer und konnte auf einer integrierten Registriereinheit aufgezeichnet werden.

Der Wunsch nach einer noch differenzierteren Aufzeichnung der Gerinnselbildung führte zur Entwicklung der Resonanzthrombographie, die die Messung mit Hilfe eines anderen physikalischen Prinzips durchführte. Hierbei wird im wesentlichen die mechanische Beanspruchung des sich bildenden Gerinnsels durch eine Schwingung und den dabei auftretenden Resonanzeffekt herbeigeführt und diese Schwingungsänderung in Form einer Kurve registriert. (6,7,8)

Diese seit 1980 zur Verfügung stehende Methode (Resonanzthrombographie) hat folgende Vorteile:

- 1.) kurze Meßdauer;
- 2.) Vollblutverwendung beim Testansatz;
- 3.) zeitliche Trennung der plasmatischen und der thrombozytären Gerinnung.

Aufgrund dieser Eigenschaften bietet sich die Resonanzthrombographie als Suchtest thrombozytärer Gerinnungsstörungen an.

1.5. Ziel unserer Untersuchungen

Von großer Bedeutung ist die Frage nach der Funktionsfähigkeit von Thrombozyten nach therapeutischer oder prophylaktischer Transfusion.

Wie oben beschrieben besteht der Beitrag der Thrombozyten zur Hämostase in einer Reihe von Funktionen.

Die Untersuchung dieser Funktionen ist aufwendig und besonders bei niedrigen Plättchenzahlen nicht durchführbar. Die als Globaltest dienende Blutungszeit kann bei niedrigen Plättchenzahlen ebenfalls nur bedingt zur Anwendung kommen, da meist lange Blutungszeiten, bis über 20 Minuten, zu erwarten sind, verbunden mit Infektrisiko und Nachblutung.

Durch eine physikalische Screening-Methode, die im Gegensatz zum TEG die Fibrinbildung von der Plättchenaktivität unterscheiden läßt, erwarten wir eine über die reine Thrombozytenzählung hinausgehende Information über die Effektivität der Thrombozytentransfusion.

Hierbei sollte die Thrombozytenzählung vor und nach Transfusion der Plättchenkonzentrate mit den RTG-Messungen verglichen werden.

Da in vielen Fällen eine prophylaktische Transfusion erfolgte, konnte im Rahmen dieser Untersuchungen nicht zur Frage der klinischen Wirksamkeit Stellung bezogen werden.

2. Materialien und Methoden

2.1. Beschreibung des Resonanzthrombographen (RTG) nach HARTERT

Bei der Resonanzthrombographie wird die Elastizität eines sich bildenden Blutgerinnsels ausgenutzt, um Meßwerte und damit Aussagen über die Qualität eines sich bildenden Gerinnsels erhalten zu können. Hierbei spielt besonders der Resonanzeffekt eine wesentliche Rolle. Er macht diese Methode gegenüber anderen Meßverfahren des Blutgerinnungsablaufes deutlich empfindlicher. So ist es möglich, bis hinab zu einem Fibrinogenwert von 10 mg% noch eine verwertbare Messung zu erhalten.(6) Im Gegensatz zur Thrombelastographie (TEG) wird eine gute Trennung zwischen plasmatischer Gerinnung und Fibrinbildung auf der einen Seite und Thrombozytenaktivität auf der anderen Seite erreicht.(6,7,8)

Der Resonanzthrombograph besteht aus zwei Teilgeräten, dem eigentlichen Probenmeßteil mit dem Schwingungs-generator und dem Registriergerät zur Aufzeichnung der Meßkurve. Die Abb.1a-f zeigen das Gerät im Ganzen und in einigen wichtigen Teilansichten.

Bildlegende: Abb. 1a Resonanzthrombograph
Abb. 1b u. c Meßeinheit vor der Messung
Abb. 1d Bedienungsfeld mit Zeitanzeige
Abb. 1e Küvettenrevolver und Meßstempel
Abb. 1f Resonanzthrombograph in Meßstellung

Abbildungen zum Resonanzthrombographen (Abb. 1a-f)

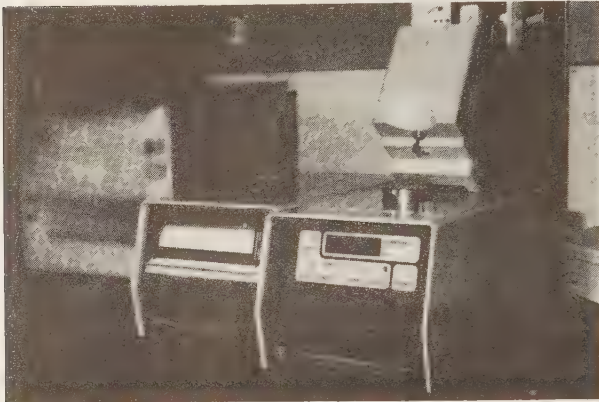


Abb. 1a



Abb. 1b

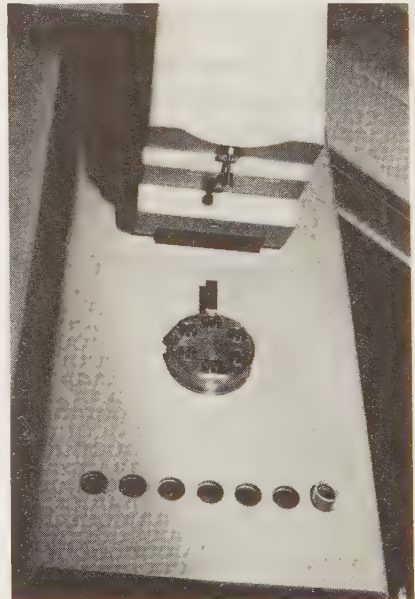


Abb. 1c

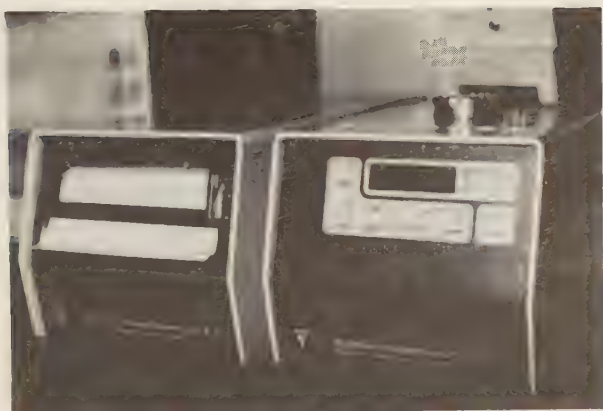


Abb. 1d

Abb. 1e

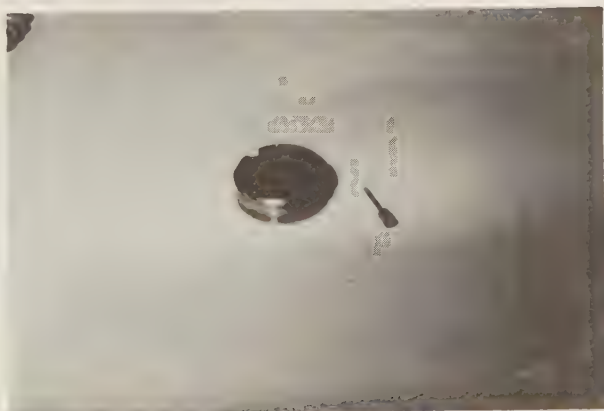
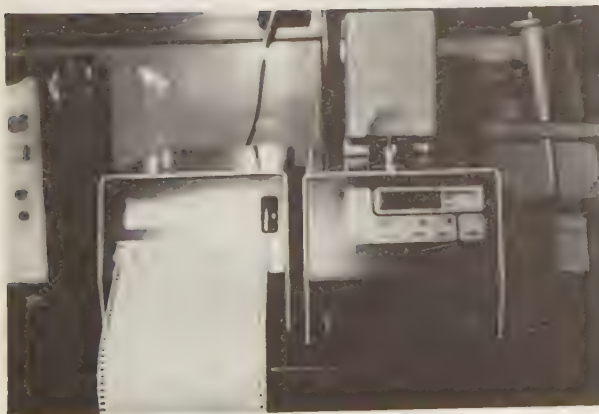
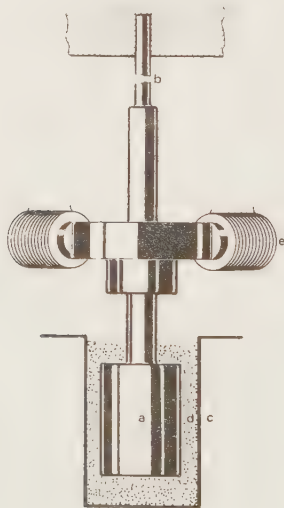


Abb. 1f



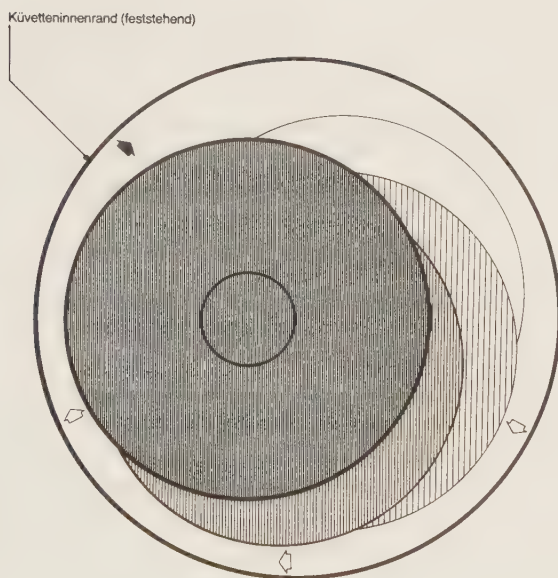
2.2. Aufbau und Funktion der Meßeinheit

In eine zylindrische Küvette aus V4a-Stahl taucht ein ebenfalls zylindrischer Innenkörper aus dem gleichen Material. Zwischen diesen beiden Elementen des Meßteils liegt ein Spaltraum von 1,3 mm Breite. Der Innenzylinder ist im Schwingungsgenerator an einem elastischen Stab aufgehängt, der es ermöglicht, den Innenzylinder in der Küvette auf einer eliptoiden Bahn (Orbitalbewegung), vergleichbar einer Rührbewegung, umherzuführen. Dadurch wird das Probenmaterial (Zitratblut, rekalkifiziert) mit etwa 5mm/Sek. im Spaltraum der Küvette bewegt. Das Probengefäß ist während der Messung auf 37°C erwärmt. Abbildung 2 zeigt schematisch die Meßanordnung in der Seitansicht, in Abbildung 3 ist die Orbitalbewegung dargestellt.



Meßaggregat des Resonanzthrombographen (schematisch)
a = Innenzylinder (=Stempel-),
b = elastische Aufhängung,
c = Küvette,
d = Spalt
e = Anregungsspulen

Abb. 2



Orbitalbewegung des Innenzylinders
mit wechselndem Orbitalradius. Dieser
reicht von $\frac{1}{16}$ bis über $\frac{1}{8}$ der Spaltbreite.
in Abhängigkeit von der Resonanz-
und Dämpfungssituation

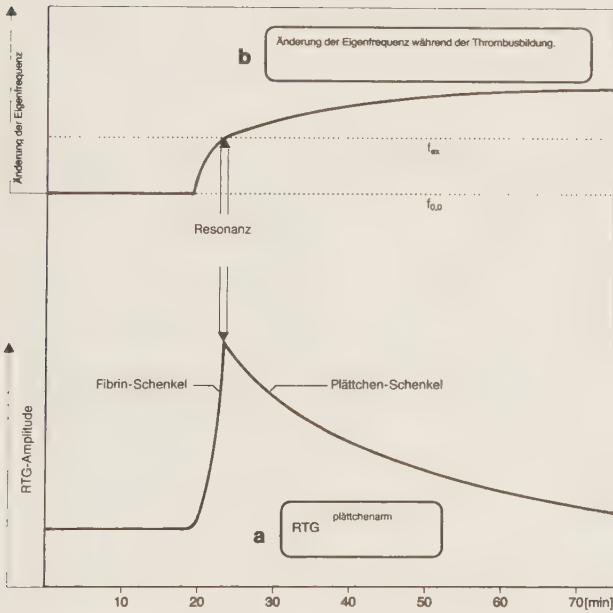
Abb. 3

Die Fließbewegung des Zitratblutes kommt durch die einsetzende Gerinnung nach und nach zum Erliegen. Das Blutgerinnsel haftet jetzt fest an der Küvetten- und Innenzylinderwand. In der Ausgangssituation (ungeronnenes, rekalkifiziertes Zitratblut) beträgt der Radius der Orbitalbewegung $1/50$ der Spaltraumbreite der Meßküvette. Dieser Radius kann durch die auftretende Resonanz über das Fünffache hinaus zunehmen und andererseits bis auf fast Null zurückgehen, wenn sich durch den Einfluß der Thrombozyten das Gerinnsel verfestigt. Als Meßgröße des Resonanzthrombographen dient die Veränderung dieses Radius (6).

2.3. Die Bedeutung des Resonanzeffektes

In einem Schwingungsgenerator des Meßkopfes des Resonanzthrombographen wird mit konstanter Anregungsfrequenz von 50 Hz eine Orbitalbewegung am Innenzylinder der Meßeinheit erzeugt. Dies ist der Zustand bei noch flüssigem (ungeronnenem) Probematerial. Bei Ausbildung von Fibrin, das primär noch nicht an den Wänden der Meßeinheit haftet, kommt es zu einer Steigerung der Viskosität des Probenmaterials, woraus ein kurzzeitiges Absinken des Radius resultiert, erkenntlich an einer muldenförmigen Absenkung der Kurve vor dem Anstieg. Haftet nun das Gerinnsel fest an den Wänden (Innenzylinder und Küvette), wird dem elastischen Moment des Gerätes durch entstehendes Fibrin ein neues elastisches Moment hinzugefügt. Die Eigenfrequenz des Systems, die ursprünglich niedriger als die Anregungsfrequenz liegt, steigt nun mit zunehmender Fibrinbildung kontinuierlich an und erreicht schließlich die Anregungsfrequenz. Hierbei herrscht volle Resonanz. Dies ist der Umschlagpunkt in der RTG-Kurve. Je nach Qualität des Gerinn-

sels steigt die Frequenz weiter an, während er Radius der Orbitalschwingung gegen Null strebt. Abb. 4 zeigt die Änderung der Eigenfrequenz in Beziehung zum Resonanzthrombogramm einer plättchenarmen Zitratblutprobe.

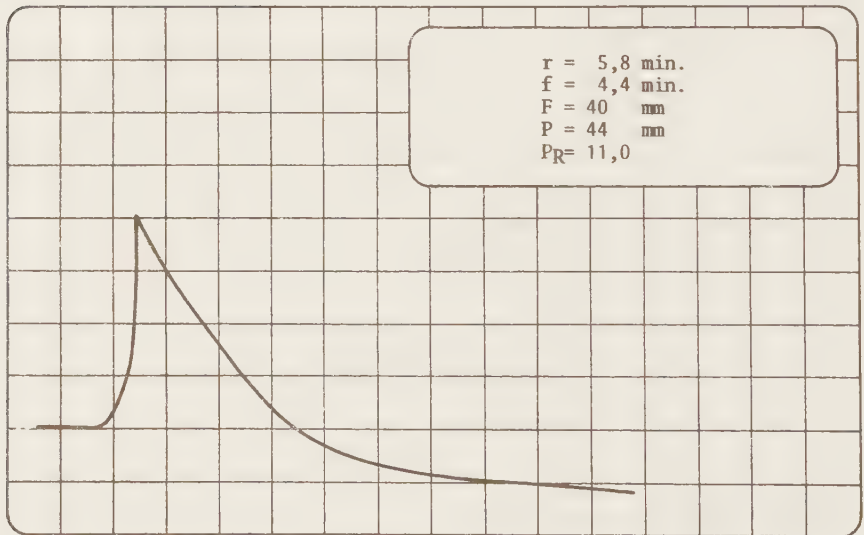


RTG. plättchenarm und seine Beziehung zum Resonanzverhalten des Meßzylinders bei seiner Orbitalschwingung.

Abb. 4

Die Startlinie (Grundlinie) des Resonanzthrombogramms ist ein Maß für die Reaktionszeit (flüssige Phase) bis zum Eintritt der Gerinnung. Der Aufstrich ist überwiegend Ausdruck der Fibrinbildung (plasmatische Gerinnung), während der absteigende Schenkel im wesentlichen die Verfestigung des Gerinnsels durch die Plättchenaktivität darstellt.

Bei verminderter Plättchenaktivität ist der absteigende Schenkel stark abgeflacht, wie dies Abb. 5 zeigt.



RTG - Kurvenveränderung, typisch für Thrombozytopenie

2.4.1. Testansatz bei Messungen mit dem Resonanzthrombographen

0,3 ml Zitratvollblut werden mit 0,3 ml Calciumchlorid (CaCl_2) 1/60 mol in einem Teströhrchen gut vermischt. Von diesem Gemisch werden sofort 0,3 ml zur Messung in die auf 37°C erwärmte Stahlküvette des Resonanzthrombographen gegeben und gleichzeitig am Gerät der Startknopf gedrückt; danach wird der Innenzylinder mit dem Schwingungsgenerator eingesenkt. Der Meßvorgang nimmt bei einem Papiervorschub von 2 mm/min bei Normalkurven minimal 15 Minuten, bei schweren Gerinnungsstörungen auch 60-90 Minuten in Anspruch.

Bei einer Vorversuchsreihe, die wir mit anderem Probenmaterial (plättchenreiches Plasma) durchführten, verwendeten wir einen geänderten Testansatz.

Hierbei wurde 0,3 ml PRP oder eine Verdünnung davon, vorsichtig durchmischt; anschließend fügten wir 0,3 ml 1/40 mol CaCl_2 -Lösung, isoton hinzu. Aus diesem Gemisch wurde sofort 0,3 ml in die Meßküvette des Resonanzthrombographen eingebracht und der Startknopf gedrückt. Der Meßkopf wurde zuletzt eingesenkt.

2.4.2 Meßparameter bei der RTG - Messung

Bei der Auswertung der im Resonanzthrombographen registrierten Kurve werden folgende Meßparameter gemessen (n. HARTERT):

r-Zeit = Reaktionszeit (min)

f-Zeit = Fibrinbildungszeit (min)

F-Wert = Fibrinamplitude (mm)

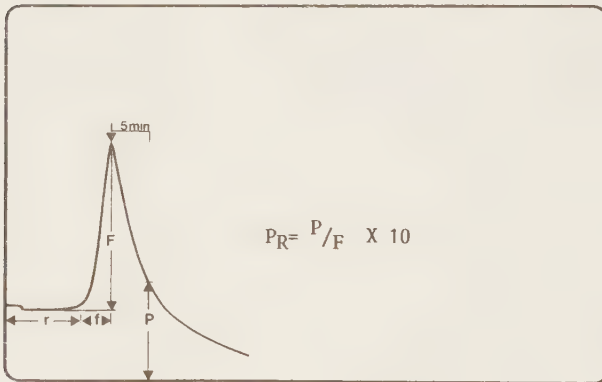
P-Wert = Plättchenamplitude (mm)

P_R = Plättchenwert (-)

Der Plättchenwert errechnet sich nach der Formel:

$$P_R = P/F \times 10$$

In Abb. 6 werden die Meßparameter in einer RTG - Meßkurve eingezeichnet illustriert.



Ein Vermessungsmodus für RTG-Kurven (schematisch)

- r = Coagulationszeit, bzw. Reaktionszeit (in min)
- f = Fibrinbildungszeit, Aufstiegszeit des Fibrin-Schenkels (in min)
- F = Amplitude des RTG (in mm)
- P = Amplitude des P-Schenkels (in mm)

Abb. 6

2.5. Reinigung und Störanfälligkeit der Messung

Eine wichtige Voraussetzung für eine einwandfreie Messung ist die gründliche Reinigung von Küvette und Innenzylinder. Nach Entfernung der Gerinnselreste mit einem Watteträger wird die Meßeinheit durch Einlegen in eine 1:10 verdünnte Reinigerlösung (RBS-Konzentrat, Fa. Goedeke) von allen Proteinresten befreit. Danach wird mit Aqua bidestillata gespült und im zweiten Reinigungsschritt mit einem Isopropylalkohol (96%) / Äthyläthergemisch gründlich entfettet und mit fussselfreiem Papier nachgetrocknet.

Nach dieser ausgiebigen Reinigung sahen wir keine schmutzbedingten Artefakte mehr.

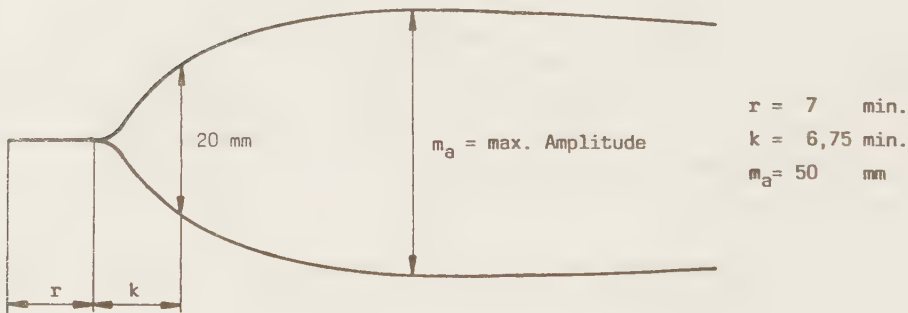
Die Störanfälligkeit des Gerätes ist relativ gering. Wichtig ist es darauf zu achten, daß der Resonanzthrombograph erschütterungsfrei aufgestellt ist. Durch leichtes Wackeln entstehen "Spike"-artige Artefakte, bei heftigen Erschütterungen kommt es sogar zum Abbruch der Messung. Artefakte stellten sich andererseits auch dann ein, wenn das Meßsubstrat sehr hohe Thrombozytenzahlen aufwies (z.B. Messung am Thrombozytenkonzentrat); hierbei kam es häufig zum Gerinnselabriß von den Wänden der Meßeinheit.

Sehr lange Meßzeiten, über eine Stunde hinaus, können durch Austrocknung zum Gerinnselabbruch führen.

2.6.1. Thrombelastographie n. HARTERT (19)

Die Thrombelastographie ist ein seit 1948 bekanntes, von H. HARTERT entwickeltes Verfahren zur Messung der Gerinnselbildung in vitro.

In eine zylindrische Stahlküvette taucht ein zylindrischer Stempel; im Spaltraum dieser Küvette befindet sich rekalkifiziertes Zitratblut. Durch einen Motor wird die Küvette langsam um $4^{\circ}45'$ hin- und um den selben Betrag zurückgedreht. Bei einsetzender Gerinnung kommt es zum Haften des Gerinnsels im Probengefäß und somit zum Mitdrehen des zylindrischen Stempels. Diese Mitbewegung wird durch eine integrierte Schreibeinheit auf Papier übertragen. Abb. 7 zeigt die typische TEG-Kurve mit den eingesetzten Meßparametern.



TEG - Normalkurve

Meßparameter illustriert

Abb. 7

2.6.2. Testansatz bei einer TEG-Messung

0,3 ml Zitratblut wird in die Küvette pipettiert und dort mit 0,05 ml Calciumchlorid 0,025 mol vermischt. Danach wird der Stempel eingesenkt und die Messung gestartet. Um Austrocknung zu vermeiden wird das rekalkifizierte Zitratblut der Meßküvette mit Parafinöl überschichtet.

2.7. Unterschied der beiden Meßverfahren

Während die ältere Methode, die Thrombelastographie, ein Blutgerinnsel vergleichsweise zweidimensional beansprucht (6), wird mit der Resonanzthrombographie durch die sogenannte Orbitalbewegung eine dreidimensionale Scherbeanspruchung des Gerinnsels erreicht.

Die Resonanzthrombographie erlaubt somit im Vergleich zur Thrombelastographie eine bessere Differenzierung zwischen Fibrinbildung und Thrombozytenfunktion.

2.8. Thrombozytenzählung

Untersucht wurden Patienten mit Thrombozytopenien unterschiedlicher Genese. Aus diesem Grund wurden die Thrombozyten vor und nach Thrombozytentransfusion gezählt. Auch in den Thrombozytenkonzentraten wurde die Plättchenzahl bestimmt.

Prinzip der Methode

Zur Thrombozytenzählung verwendeten wir Zitratvollblut, das mit steriler Einmalkanüle und Einmalspritze mittels Venenpunktion entnommen wurde. Spätestens 15 Minuten nach der Entnahme wurden die Proben zur Zählung im Labor vorbereitet. Mit Hilfe einer Leukozyten-Glaspipette zogen wir blasenfrei Blut bis zur Marke 0.5 auf; sodann wurde bis zur Marke 1.1 eine 2 %ige Prokainlösung eingesaugt. Der Inhalt wurde gut durchmischt und auf einem Pipettenrüttler 15 Minuten hämolysiert. Nach Abtropfen von drei Tropfen aus der Pipette wurde die Lösung in zwei vorbereitete NEUBAUER-Zählkammern eingebracht und zwanzig Minuten lang in einer feuchten Kammer zur Sedimentation aufbewahrt.

Anschließend erfolgte die Zählung unter dem Phasenkontrastmikroskop (Fa. Zeiss).

Die Berechnung Thrombozytenzahl erfolgte nach der Bildung des Mittelwertes aus den Ergebnissen der beiden Kammern (wenn Differenz kleiner 10 %) nach der Formel (Verdünnung durch Zitratblut wurde berücksichtigt):

$$n \times 1000 = \text{Thrombozytenzahl}/\mu\text{l}$$

(n = Mittelwert der in den 5 Gruppenquadraten der Neubauer-Kammer ausgezählten Thrombozyten)

2.9. Gerinnungsglobaltests

Um Störungen im plasmatischen Gerinnungssystem auszuschließen, die möglicherweise thrombozytär bedingte Kurvenveränderungen beeinflussen, wurden folgende Gerinnungstests durchgeführt:

2.9.1. Prothrombinzeit nach Quick

Testansatz:

0,1 ml thrombozytenarmes Zitratplasma wurde 30 Sekunden im Koagulometer (Schnitger und Gross) vorgewärmt. Hierauf Zugabe von 0,2 ml vorgewärmten (37°C) Calciumthromboplastin (Calciumthromboplastin C, Fa. Merz und Dade) zum Start der Reaktion. Das Koagulometer ermittelte den Zeitpunkt der Gerinnung selbständig.

Eine Eichkurve konnte aus einem Plasmapool erstellt werden. Der Normalbereich liegt bei 70 - 100 %.

2.9.2. Partielle Thromboplastinzeit - PTT

Testansatz:

0,1 ml thrombozytenarmes Plasma wurde mit 0,1 ml PTT Reagenz (Platelin Plus Activator Automatat, Fa. Goedeke) versetzt und zwei Minuten lang bei 37°C inkubiert. Danach wurde 0,1 ml Calciumchlorid 0,025 mol, vorgewärmt, als Startreagenz zugegeben.

Das Koagulometer (Schnitger und Gross) ermittelt selbsttätig den Gerinnungseintritt.

Der Normalbereich wurde mit 30 - 45 Sekunden angegeben.

2.9.3. Fibrinogenbestimmung - Methode nach Clauss (18)

Testansatz:

0,2 ml verdünntes, plättchenarmes Patientenplasma (Verdünnung 1:10 mit Owren's Veronalpuffer) wurde 30 Sekunden bei 37°C inkubiert.

Anschließend gaben wir 0,1 ml Thrombinreagens (Fa. Merz und Dade / 80 - 100 E/ml) zu. Das Koagulometer ermittelte den Gerinnungseintritt selbsttätig.

Aus der Mehrfachbestimmung wurde die mittlere Zeit errechnet und auf der Eichkurve der dazugehörige Fibrinogenwert abgelesen.

Normalbereich liegt zwischen 1,7 und 4,1 g/l.

2.9.4. Subaquale Blutungszeit nach Marx (13)

Um eine direkte Korrelation der Thrombozytenfunktion mit den Ergebnissen der Resonanzthrombographie zu erhalten, bestimmten wir bei wenigen Patienten die Blutungszeit.

Nach Desinfektion des Ohrläppchens wurde hier mit zwei aneinandergelegten Hämostiletten eine kleine Inzision gesetzt. Sofort wurde das Ohrläppchen in ein bereitgehaltenes, mit sterilem Aqua destillata gefülltes Becherglas eingetaucht und zur gleichen Zeit die Stoppuhr eingeschaltet. Der zu Boden sinkende Blutfaden wurde bis zum Sistieren der Blutung beobachtet und nun wieder die Stoppuhr ausgeschaltet und die Zeit abgelesen.

Normalbereich: 2 - 5 Minuten.

2.10. Normalpersonen

Als wir unsere Versuchsreihe begannen, verwendeten wir eines der ersten sechs Prototypen des Resonanzthrombographen zur klinischen Prüfung in unserem Labor. Es war daher nötig, eigene Normalwerte zu erstellen.

An 20 gesunden Kontrollpersonen (männl. : weibl. = 13 : 7) wurden folgende Parameter ermittelt:

- Prothrombinzeit (Quick)
- partielle Thromboplastinzeit (PTT)
- Fibrinogen
- Thrombozytenzahl
- Resonanzthrombogramm (r, f, F, P, P_R)

Die Kontrollpersonen mußten klinisch gesund sein, die Laborparameter im Normalbereich liegen, es durfte keine chronische und auch akute Medikamenteneinnahme vorliegen. Ganz besonders wurde darauf Wert gelegt, daß keine Analgetika eingenommen wurden, wie z.B. Acetylsalizylsäure, und daß bei den weiblichen Kontrollpersonen keine Kontrazeptivaeinnahme vorlag.

Zur Frage der Schwankungsbreite bei identischen Proben wurde bei einer gesunden Kontrollperson (männlich) eine RTG - Messung 15 mal wiederholt.

2.11. Patientengut

Unsere Untersuchungen führten wir an 30 thrombozytopenischen Patienten unserer Klinik durch.

Die Geschlechtsverteilung betrug:

männl. : weibl. = 45% : 55% .

Die vorliegenden Thrombozytopenien der 30 untersuchten Patienten traten im Rahmen folgender Krankheitsbilder auf:

- akute myeloische Leukämie (n = 13)
- akute lymphatische Leukämie (n = 3)
- chronische lymphatische Leukämie (n = 3)
- immunoblastisches Lymphom (n = 3)
- aplastische Anämie, Panzytopenie (n = 2)
- chronische myeloische Leukämie (n = 1)
- Anämie, Thrombozytopenie unklarer Genese (n = 1)
- sonstige (n = 4)

Die Thrombozytopenien waren eine Folge von Grundkrankheit und/oder zytostatischer Chemotherapie.

Aus folgenden Indikationen wurden Thrombozytenkonzentrate gegeben:

- 1) Therapeutische Indikation: bei akuter Blutung auch bei Thrombozytenzahlen größer als 20.000 Thr./mm^3 ;
- 2) Prophylaktische Indikation: bei Thrombozytenzahlen kleiner als 20.000 Thr./mm^3 .

3. Ergebnisse

3.1. Erstellung der Normalwerte

Bei 20 gesunden Kontrollpersonen wurde nach der Messung der Gerinnungsparameter, die im Normalbereich lagen, eine Resonanzthrombographie-Messung durchgeführt. Die ermittelten RTG-Meßparameter sind in Tab. 1 aufgeführt.

Kontroll- pers. Nr.:	RTG-Para- meter	Reaktions- zeit	Fibrin- bildung	Fibrin- Ampl.	Plätt. Ampl.	Plätt. Wert
		r(min)	f(min)	F(mm)	P(mm)	P _R (-)
1		7,7	2,9	50	9	1,8
2		8,5	2,6	51	9	1,8
3		7,0	3,4	67	12	1,8
4		5,8	1,8	51	7	1,4
5		8,5	2,9	56	10	1,8
6		7,3	3,0	54	8	1,5
7		9,7	3,0	76	11	1,5
8		7,0	1,4	48	8	1,7
9		7,0	1,7	58	7	1,2
10		9,7	2,4	55	11	2,0
11		9,5	3,0	73	12	1,6
12		7,8	2,0	50	7	1,4
13		9,0	3,0	67	9	1,3
14		7,5	2,0	36	5	1,4
15		8,0	2,0	70	8	1,1
16		6,0	2,0	61	6	1,0
17		6,8	2,2	64	7	1,1
18		7,0	2,8	70	9	1,3
19		5,0	2,9	49	6	1,2
20		7,0	3,0	48	9	1,9

Tab. 1

Aufgrund der Einzelwerte der RTG - Kurven ergaben sich die in Tabelle 2 aufgeführten Mittelwerte und Standardabweichungen:

MW und Standardabweichung zu den Werten von Tab. 1 :

RTG- Parameter Statistik	r	f	F	P	P _R
$\bar{x}$	7,6	2,5	57,7	8,5	1,5
σ	1,3	0,6	10,4	1,9	0,3

Tab.2

Verteilung der Meßwerte im Vergleich von 20 gesunden Kontrollpersonen, Tabelle 3 zeigt diese Verteilung:

n = 20

RTG - Parameter Verteilung im 2 σ - Bereich

	-s	$\bar{x}$	+s
r	6,3 min	7,6 min	8,9 min
f	1,9 min	2,5 min	3,1 min
F	47,3 mm	57,7 mm	68,1 mm
P	6,6 mm	8,5 mm	10,4 mm
P _R	1,2 -	1,5 -	1,8 -

Tab. 3

Die Standardabweichung gibt einen Streubereich der Messungen der Einzelparameter bei gesunden Kontrollpersonen an:

Hierbei liegen die Meßwerte zu

		<2 s	im 2 s	>2 s	- Bereich
(n = 20)	r	10 %	70 %	20 %	
	f	15 %	80 %	5 %	
	F	5 %	75 %	20 %	
	P	15 %	65 %	20 %	
	P _R	15 %	75 %	10 %	

Tab.4

Daraus ergibt sich eine Streuung der Meßparameter:

r	von ca. +/- 17 % im 2 s - Bereich
f	von ca. +/- 24 % im 2 s - Bereich
F	von ca. +/- 18 % im 2 s - Bereich
P	von ca. +/- 22 % im 2 s - Bereich
P _R	von ca. +/- 20 % im 2 s - Bereich

Tab.5

Durchschnittlich liegen 73 % der Meßwerte im Bereich der zweifachen Standardabweichung (2 s). Die durchschnittliche Streuung der Parameter beträgt +/- 20,2 % im 2 s - Bereich.

Um festzustellen in welchem Umfang die Meßwerte bei derselben Normalperson schwankten, führten wir die Messung einer Blutprobe 15 Mal durch. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefaßt (Inträassay) :

Parameter Proben Nr.	r	f	F	P	P _R
1	8,0	2,1	66	9,0	1,4
2	5,5	2,5	63	9,0	1,4
3	5,5	2,3	56	8,5	1,5
4	6,5	2,3	72	10	1,4
5	5,0	2,0	67	8,5	1,3
6	6,0	2,0	65	9,5	1,5
7	5,5	1,7	52	5,0	1,0
8	6,5	1,5	62	6,0	1,0
9	6,2	1,5	59	7,0	1,2
10	5,0	1,2	54	6,0	1,1
11	5,6	1,5	55	7,0	1,3
12	7,0	1,5	56	6,0	1,1
13	6,0	1,9	53	6,0	1,1
14	6,5	1,5	40	6,0	1,5
15	8,5	1,5	48	5,0	1,0

Tab.:6

Hieraus ergaben sich folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Einzelparameter:

Tabelle 7 MW + Standardabweichung zu Tabelle 6

Para- meter Statistik	r	f	F	P	P _R
$\bar{x}$	6,2	1,8	58	7,2	1,2
σ	1,0	0,4	8	1,7	0,2

Verteilung der Meßwerte bei 15 - facher Messung derselben Kontrollperson:

	- 2 s	$\bar{x}$	+ 2 s
r	5,2 min	6,2 min	7,2 min
f	1,4 min	1,8 min	2,2 min
F	50,0 mm	58,0 mm	66,0 mm
P	5,5 mm	7,2 mm	8,9 mm
P _R	1,0 -	1,2 -	1,4 -

Tab.8

Bei Auswertung der Einzelmessungen liegen im und jenseits des Bereiches der zweifachen Standardabweichung:

	kleiner 2 s	2 s	größer 2 s
r	13,3 %	86,6 %	--
f	6,6 %	73,3 %	20,0 %
F	13,3 %	73,3 %	13,3 %
P	13,3 %	60,0 %	26,6 %
P _R	--	80,0 %	20,0 %

Tab.9

Hieraus ergibt sich eine Streuung der Meßparameter (Tab. 10) :

r	von	+/- 16,1 %	im 2 s - Bereich
f	von	+/- 22,2 %	im 2 s - Bereich
F	von	+/- 13,8 %	im 2 s - Bereich
P	von	+/- 23,6 %	im 2 s - Bereich
P _R	von	+/- 16.6 %	im 2 s - Bereich

Tab. 10

Durchschnittlich liegen von den 15 Messungen zur Reproduzierbarkeit einer Einzelmessung 74,6 % der Messungen im angegebenen 2 s - Bereich.

Die Streuung aller Parameter betrug durchschnittlich +/- 18,5 % bei 15-facher Messung derselben Normalperson.

3.1.1. Interpretation der Ergebnisse der Normalwertbestimmung

Bei beiden Untersuchungsreihen verteilen sich die Meßwerte annähernd laut einer Gauß'schen Normalverteilungskurve. Bei unserer Untersuchung liegen 73% der Messungen bei Normalpersonen im 2 s -Bereich, annähernd 100% der Messungen im 4 s -Bereich.

3.1.2. Festsetzung des Normalbereiches für die verschiedenen Meßparameter

	- 2 s ----	$\bar{x}$ ----	+ 2 s
r	5,0 min	7,6 min	10,2 min
f	1,3 min	2,5 min	3,7 min
F	36,9 mm	57,7 mm	78,5 mm
P	4,7 mm	8,5 mm	12,3 mm
P _R	0,9 -	1,5 -	2,1 -

Tab. 11

In Tabelle 11 sind die Normalbereiche der verschieden RTG-Meßparameter angegeben.

Diese Angabe des Normalbereiches, ermittelt aus einem Normalkollektiv, ist für die Verwendung von Zitratvollblut bei Messung in Stahlküvetten gültig.

3.2. Abhängigkeit der Thrombozytenzahl vom deszendierenden Schenkel der RTG-Kurve

Um die Abhängigkeit der im absteigenden Schenkel der RTG - Kurve zu messenden Parameter von der Thrombozytenzahl darzustellen, führten wir mit Zitratplasma zweier Kontrollpersonen eine Verdünnungsreihe durch. In der Laborzentrifuge (Minifuge 2, Heraeus-Christ) wurde eine Zitratblutprobe bei 220 g Erdbeschleunigung 5 Minuten lang zentrifugiert und anschließend der Plasmaüberstand abgesaugt. Dies war das zu verwendende plättchenreiche Plasma (PRP). Der Rest der Probe wurde bei 5000 g 20 Minuten lang zentrifugiert und dabei aus dem Überstand plättchenarmes Plasma (PPP) gewonnen, womit das PRP später verdünnt wurde.

Um nicht zu hohe Thrombozytenzahlen bei der Messung zu erhalten (Gefahr des Gerinnselabrisses - siehe Störungen), begannen wir die Messungen mit PRP von ungefähr 500.000 - 600.000 Thr./mm³. In diesem Bereich sahen wir noch keine Gerinnselabrisse bei der Messung mit dem Resonanzthrombographen.

Da diese Messungen mit Zitratplasma durchgeführt wurden, verwendeten wir einen für dieses Substrat geänderten Testansatz - siehe Abschnitt Materialien und Methoden.

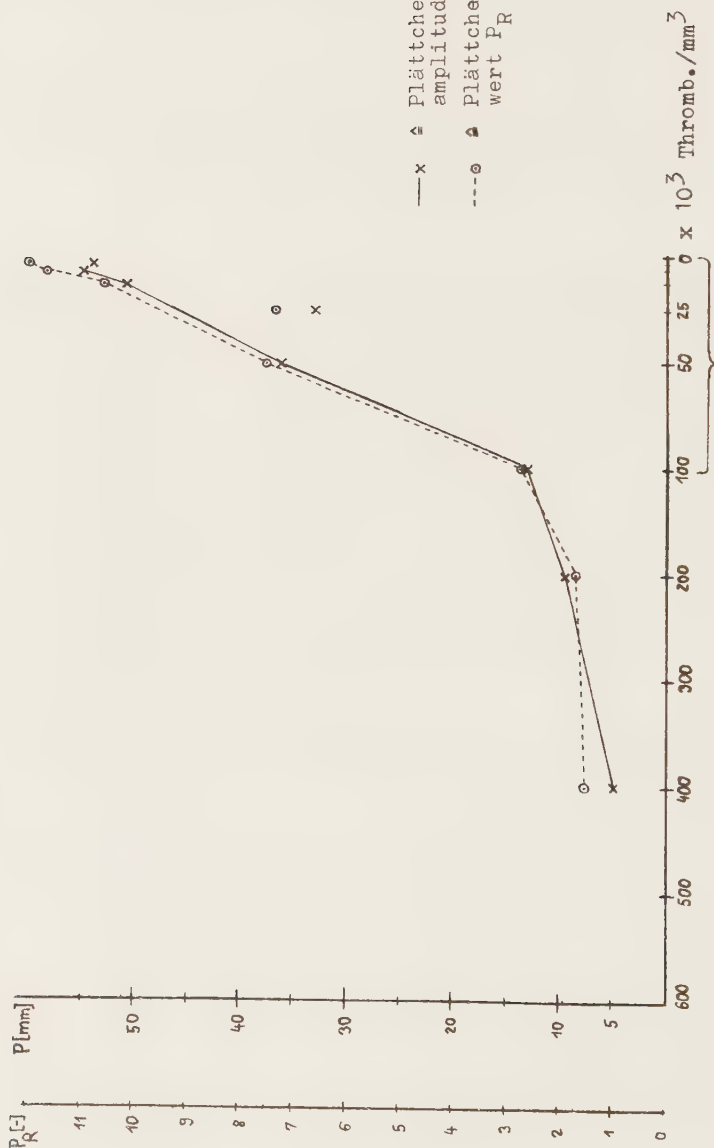
Zwar konnten wir bei der Verwendung von Zitratplasma nicht die erarbeiteten Normalwerte des Zitratvollblutes zugrunde legen, da es sich um ein geändertes Meßsystem handelte, doch ließ sich der Effekt abnehmender Thrombozytenzahlen und deren Einfluß auf den Thrombozytenschenkel eindrucksvoll demonstrieren. So konnten wir die den Thrombozytenschenkel betreffenden Meßparameter bei den Messungen mit Zitratplasma in Relation zueinander auswerten und auf diese Weise aussagekräftige Werte erhalten.

3.3. Abhängigkeit der Thrombozytenzahl von den Plättchen-
schenkelparametern P und P_R

Tabelle 12 zeigt die gemessenen RTG - Parameter einer an einer Normalperson durchgeführten Plasmaverdünnungsreihe. Die Thrombozytenzahlen sind absteigend von links nach rechts aufgetragen.

Thrombo- zyten	400	200	100	50	25	12,5	6,2	3,1	$\times 10^3$
r	5,0	4,5	5,5	6,7	10,5	8,5	11,5	10,4	
f	1,2	1,5	1,5	1,6	3,0	4,0	5,5	3,2	
F	34	56	48	52	45	48	47	45	
P	5	9,5	13	36	33	51	55	54	
P_R	1,5	1,7	2,7	7,5	7,3	10,6	11,7	12,0	

Tab. 12



Maßstab verdoppelt!

Abb. 8 zu Tab. 12: Abhängigkeit der Thrombozytenzahl von den "Plättchenschenkelparametern"

Ergebnisse zur Plasmaverdünnungsreihe

(Tab. 12 u. Abb. 8)

In dieser Versuchreihe konnte deutlich gezeigt werden, daß die plättchenschenkelabhängigen Parameter des RTG jenseits von $100.000 \text{ Thr./mm}^3$ eine deutliche Veränderung zeigen. Der Kurvenverlauf (Maßstab unter $100.000 \text{ Thr./mm}^3$ verdoppelt) gibt bei $100.000 \text{ Thr./mm}^3$ scheinbar einen spontanen Umschlag mit exponentiellem Ansteigen der Meßparameter P und P_R wieder. In einer zweiten Meßanordnung mit Zitratplasma konnte der Kurvenverlauf dieser hier dokumentierten Verdünnungsreihe bestätigt werden. Bemerkenswert war die immer wieder konstante und mit geringer Abweichung verlaufende Kurve für den Plättchenwert P_R . Dieser Parameter stellt nach unseren Messungen die beste Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und plättchenabhängigen Parametern dar.

3.4. Patienten mit Thrombozytopenien unterschiedlicher Ätiologie

Nach der Durchführung des Plasmaverdünnungsversuches, der uns die Abhängigkeiten des Thrombozytenschenkels im RTG, und damit der Plättchenparameter P und P_R , von der jeweils eingestellten Plättchenzahl einer Kontrollperson zeigte, versuchten wir die Abhängigkeit der gemessenen Parametern P und P_R von der Thrombozytenzahl bei Thrombozytopenien unterschiedlicher Ätiologie darzustellen (Tab.13).

Patient	Diagnose	Thr./mm ³	P (mm)	P_R (-)
P ₁	AML	91.000	8	3,1
P ₂	Hoden-CA	65.000	11	3,2
P ₃	ALL	56.000	19	4,0
P ₄	AMML	46.000	27	9,6
P ₅	Immunobl.	33.000	9	3,2
P ₆	Hoden-CA	22.000	22	10,0
P ₇	AML	12.000	65,5	12,6
P ₈	Apl. Anämie	5.000	60,0	12,8

Tab.13

Wie Tabelle 13 deutlich zeigt, ist auch bei Patienten mit Thrombopenien ($n = 8$) der Anstieg der Plättchenschenkelparameter in der Abhängigkeit von der fallenden Thrombozytenzahl zu sehen.

Sieben von acht Patienten zeichneten deutlich die Kontinuität der Kurve nach. Patient P_5 wich aus nicht geklärten Gründen aus dieser Kontinuität ab.

Somit gibt es eine deutliche Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Thrombozytenparametern im RTG. Die Genauigkeit dieser Korrelation scheint im Bereich der Genauigkeit der Methode zu liegen, d.h. es gibt keine eindeutige Zuordnung von Plättchenschenkelparametern zu einer bestimmten Thrombozytenzahl; die Streuung gleicht sich der des Normalbereiches an. Abb. 9 zeigt den Zusammenhang zwischen P/P_R und der fallenden Thrombozytenzahl.

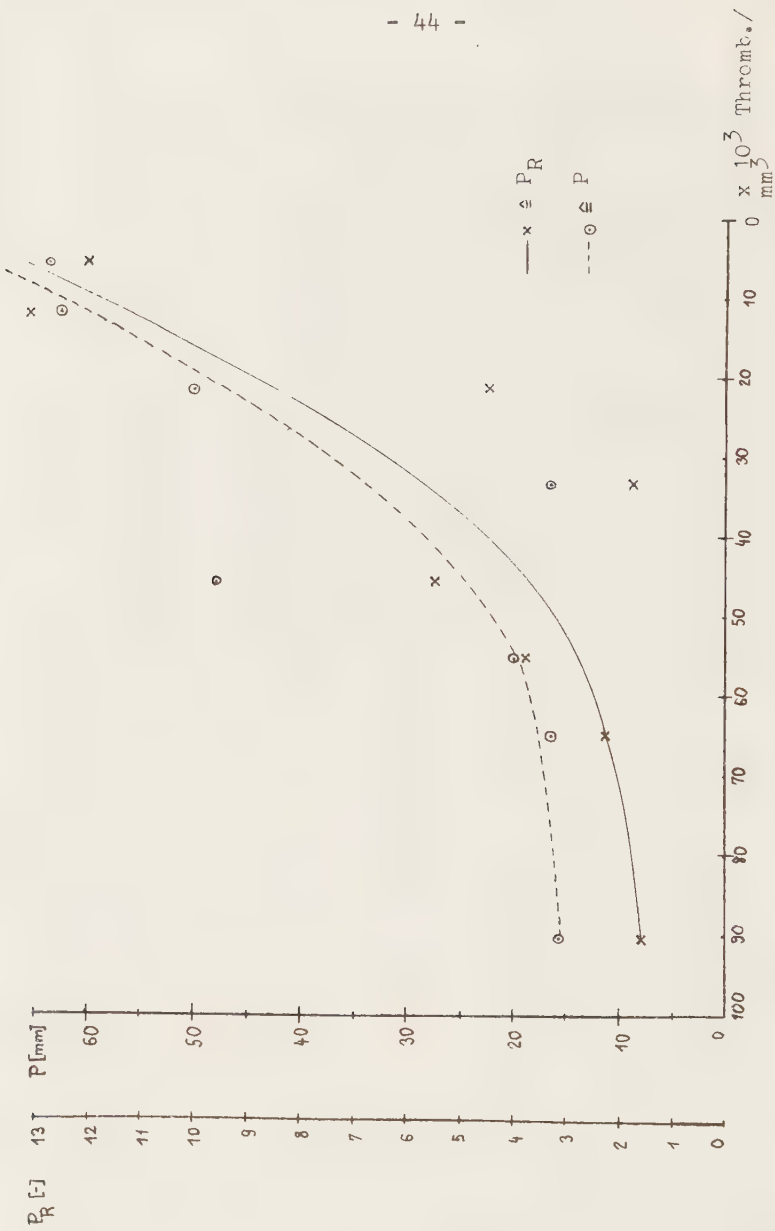


Abb. 9 zu Tab. 13: Abhängigkeit der Thrombozytenzahl von den "Plättchen-schenkelparametern" bei 8 thrombopenischen Patienten

3.5.

Thrombozytentransfusionen

Bei 30 Patienten unserer Klinik führten wir vor und 60 Minuten nach Transfusion von Thrombozytenkonzentraten Messungen mit dem Resonanzthrombographen durch. Dabei sollte geprüft werden, ob die Effektivität der Transfusion durch entsprechende Verbesserungen der Plättchenparameter dokumentierbar ist.

Von einem Therapieerfolg war dann ausgegangen worden, wenn die meßbaren Plättchenparameter um mehr als 20 % (Streuung im 2 s Bereich) verbessert wurden (Tab.14)

Tabelle 14

Pat. Nr.	Diagnose	Thromb. vor	Thromb. nach	RTG vor		RTG nach	
				P	P _R	P	P _R
1	AML	44.000	105.000	12	4,6	9	3,0
2	Anämie u. Thrombopenie	31.000	48.000	40	7,6	37	6,4
3	Immunoblastom	33.000	54.000	10	3,6	8	2,0
4	CLL	3.000	5.000	74	12,5	70	12,1
5	AML	45.000	91.000	28	7,4	9	3,3
6	AMML	46.000	40.000	28	10,0	15	7,9
7	malign.Lym.	3.000	104.000	67	13,1	9	2,2
8	AML	28.000	54.000	46	11,5	20	5,6
9	AML	36.000	55.000	16	4,6	10	3,1
10	Prostata Ca.	43.000	90.000	16	5,5	16	7,3
11	ALL	28.000	56.000	48	10,2	20	4,3
12	AML	30.000	50.000	60	9,2	17	2,7
13	AML	14.000	32.000	51	11,9	47	10,4
14	HodenCa.	22.000	65.000	44	19,1	11	3,2
15	ALL	38.000	42.000	69	11,9	51	7,7
16	AML	12.000	11.000	68	12,6	56	13,0
17	Panzytopenie	5.000	16.500	60	12,5	51	10,0
18	AML	19.000	39.000	64	8,0	52	6,5
19	ALL	23.000	38.500	30	6,0	24	4,0
20	CLL	23.000	27.000	28	6,8	28	8,0
21	AML	3.000	42.000	32	14,5	8	8,0
22	CML	10.000	43.000	38	10,3	17	4,3
23	Mb.Glanzmann	117.000	143.000	54	12,6	41	7,6
24	Lymphobl. Lymphom	6.000	18.000	54	13,2	53	14,3
25	AML	10.000	21.000	56	12,4	57	12,4
26	CLL	26.500	44.000	78	12,2	75	11,5
27	Apl.Anämie	25.000	33.000	33	8,3	46	10,5
28	MammaCa.	46.000	42.000	46	11,0	28	7,0
29	AML	39.000	45.000	54	12,0	22	4,3
30	AML	6.000	31.000	64	12,8	57	11,9

Patientenkollektiv (n=30) mit Thrombozyten-
transfusion

Bei dem untersuchten Patientenkollektiv ($n = 30$) sahen wir bei 17 Patienten mit deutlichem Thrombozytenanstieg auch eine deutliche Verbesserung der Plättchenschenkelparameter. Bei weiteren 7 Patienten, deren Thrombozyten auch angestiegen waren, konnte zwar eine Verbesserung der Parameter P und P_R gesehen, aber nicht als signifikant gewertet werden. Bei 6 Patienten dieses Kollektivs war neben ausbleibendem Thrombozytenanstieg auch keine Verbesserung der Thrombozytenparameter im RTG zu sehen. Bei unseren Messungen gingen immer (!) die Plättchenschenkelparameter P und P_R konkordant in die Bewertung ein, d.h. bei signifikant ansteigenden P - Werten, war auch der dazugehörige P_R - Wert immer signifikant in gleicher Weise verändert.

Zur Veranschaulichung der gewonnenen Daten (Tab. 14) wurden Graphiken erstellt.

Auf Abszisse und Ordinate wurde jeweils die gleiche Variable (z.B. Thrombozytenzahl) vor und nach Transfusion aufgetragen. Die eingezeichnete Gerade (Winkelhalbierende) bezeichnet die "Indifferenz" vor und nach der Therapie, d.h. tritt keine Änderung der Thrombozytenzahl nach Transfusion ein, so fällt der Meßpunkt auf die Gerade. Meßpunkte oberhalb der Gerade bezeichnen einen Therapieerfolg (Anstieg der Parameter), unterhalb und darauffliegend einen Mißerfolg (fehlender Anstieg der meßbaren Parameter).

3.5.1. Korrelation der Thrombozytenzahl vor und nach Transfusion

• (Pat.23)

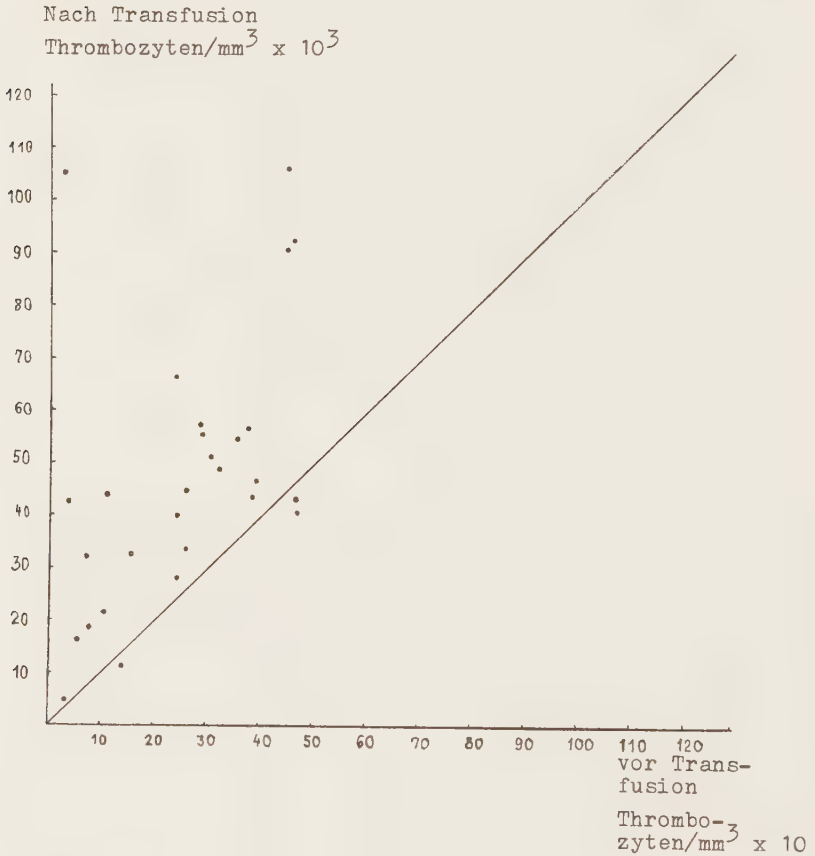


Abb.10

Bei 25 von 30 Patienten war ein deutlicher Anstieg der Thrombozyten zu verzeichnen; bei 5 Patienten sahen wir einen nur geringen oder gar keinen Anstieg. Somit konnte bezüglich der Thrombozytenzahl ein Therapieerfolg bei 25 Patienten beobachtet werden.

Tabelle 15: RTG und TEG - Werte jeweils vor und nach Transfusion

Pat. Nr.	RTG				TEG	
	vor		nach		vor	nach
	P	P _R	P	P _R	m _a	m _a
1	12/4,6		9/3,0		52,5	58,5
2	40/7,6		37/6,4		35	35,5
3	10/3,6		8/2,0		51	58
5	28/7,4		9/3,3		41	49
6	28/10		15/7,9		46,5	47
7	67/13,1		9/2,2		17	42
8	46/11,5		20/5,6		35	44
9	16/4,6		10/3,1		52	52
10	16/5,5		16/7,3		-	56
11	48/10,2		20/4,3		29	35
12	60/9,2		17/2,7		33	39
13	51/11,9		47/10,4		33	36
14	44/19,1		11/3,2		58	62
15	69/11,9		51/7,2		22	27
16	68/12,6		56/13,0		27	32,5
17	60/12,5		51/10,0		18	18,5
18	64/8,0		52/6,5		21	26
20	28/6,8		28/8,0		49	49
21	32/14,5		8/8,0		<10	>38
22	38/10,3		17/4,3		46	80
23	54/12,6		41/7,6		22	34
25	56/12,4		57/12,4		32	30
26	78/12,2		75/11,5		16	23
27	33/8,3		46/10,5		42	54
28	46/11,0		28/7,0		48	50
29	54/12,0		22/4,3		37	49
30	64/12,8		57/11,9		19	30

Tabelle 15 zeigt die Plättchenparameter P und P_R der RTG - Messungen im Vergleich zu dem entsprechenden TEG - Meßwert m_a , jeweils vor und nach Transfusion von Thrombozyten.

3.5.2. Korrelation des RTG - Parameters P_R vor und nach Transfusion von Thrombozytenkonzentraten

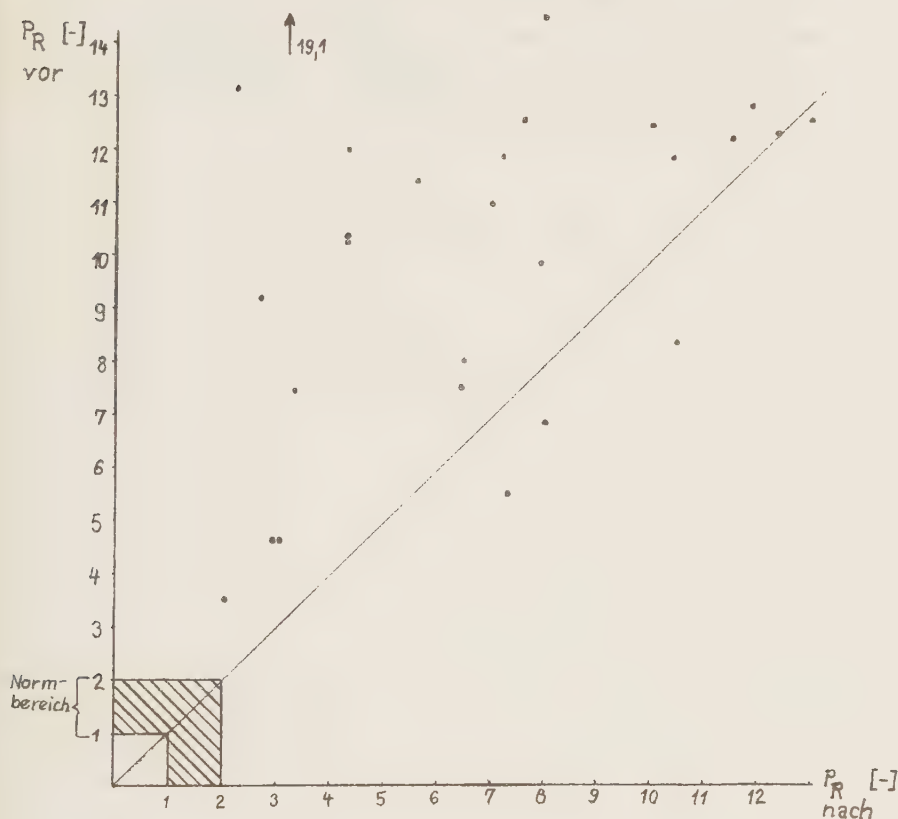


Abb.11 zu Tab.15

Die Meßpunkte lassen gut zwischen erfolgreichen, unveränderten und verschlechterten Transfusions-
ergebnissen unterscheiden. Wieder stellt die Win-
kelhalbierende von Ordinate und Abszisse die "In-
differenz" des Therapieerfolges dar. Unterhalb und

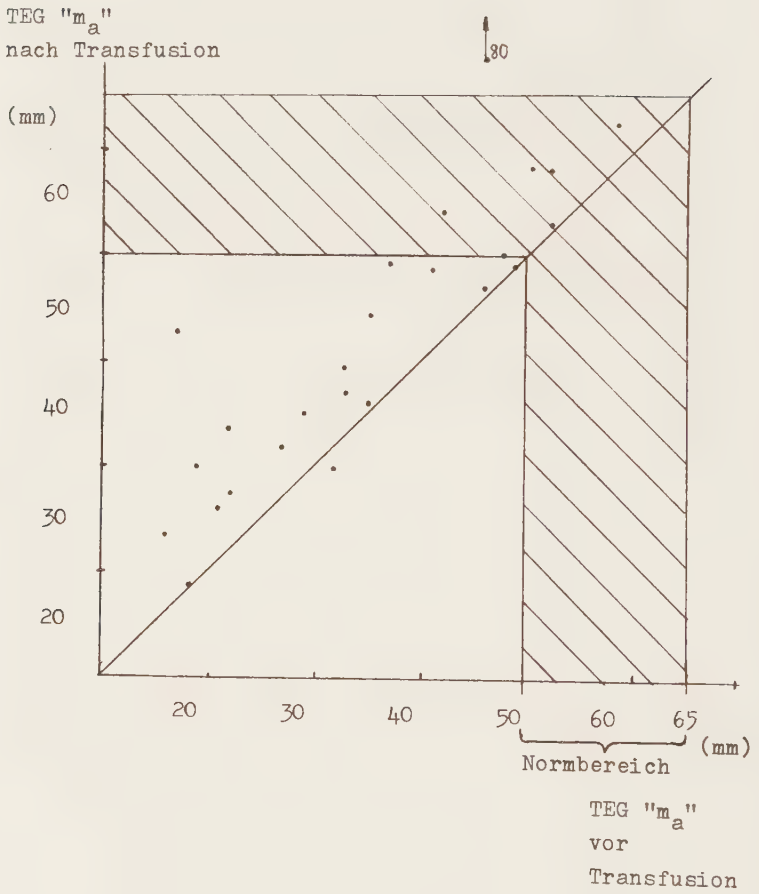
auf dieser Linie gelegene Meßpunkte signalisieren keinen Therapieerfolg bezogen auf den RTG - Parameter P_R . Oberhalb dieser "Indifferenzlinie" gelegene Meßpunkte lassen deutlich einen Therapieerfolg erkennen. Alle Thrombozytopenien liegen aber deutlich jenseits des Normbereiches, der als schraffierte Fläche kenntlich gemacht ist.

3.5.3. Korrelation des TEG - Parameters " m_a " vor und nach Transfusion von Thrombozytenkonzentraten

Auf die gleiche Art und Weise wurde der TEG - Parameter " m_a " vor und nach Transfusion in einem Schaubild dargestellt. Die Meßpunkte gruppieren sich nahe der "Indifferenzlinien". Der Therapieerfolg ist somit nicht so deutlich erkennbar wie beim RTG - Parameter P_R . Der Normbereich für " m_a " ist als schraffierte Fläche eingezeichnet. In 7 Fällen befinden sich die Meßparameter im Normbereich, obwohl bei allen Patienten vor und nach Transfusion eine ausgeprägte Thrombozytopenie, meist im Bereich von 5.000 - 30.000 Thromb./mm³, vorlag (Tabelle 14).

Die TEG - Messungen zeigen für 7 Patienten einen Mißerfolg, für 20 Patienten einen Erfolg der Transfusion an.

Abbildung 12 zu Tabelle 15:



3.6. Verhalten der plasmatischen Gerinnungsparameter bei dem untersuchten Patientenkollektiv

Um eine Beeinflussung der RTG - Messung durch plasmatische Gerinnungsstörungen auszuschließen, bestimmten wir bei allen Patienten ($n = 30$) mit Hilfe von Gerinnungsglobaltests die Parameter der plasmatischen Gerinnung. Dabei lagen die Werte von 25 Patienten im Normalbereich der Prothrombinzeit, der partiellen Thromboplastinzeit und des Fibrinogens.

Bei 4 Patienten war eine grenzwertige Abweichung von Quick-Wert und PTT vom Normbereich zu sehen, wobei die Veränderung der PTT wahrscheinlich auf eine gleichzeitige Heparinapplikation zurückzuführen ist (Tabelle 16).

Bei dem Patienten Nr. 21 fanden wir eine Hyperfibrinogenämie, bei Patient Nr. 18 eine Hypofibrinogenämie.

Die Untersuchung der Blutproben vor und nach Transfusion von Thrombozyten ergab innerhalb der Proben keine bemerkenswerten Schwankungen der plasmatischen Gerinnungswerte, was auch zu erwarten war.

Verhalten der plasmatischen Gerinnungsparameter (n = 30)

Patient	Quick (%)	PTT (sec)	Fibrinogen (mg%)
1	68	33	450
2	89	32	320
3	85	36	355
4	70	25	195
5	71	37	200
6	70	35	370
7	87	46	250
8	89	46	460
9	80	55	420
10	85	39	410
11	75	36	340
12	67	36	460
13	65	32	290
14	100	32	370
15	85	32	420
16	80	37	265
17	92	30	290
18	62	39	<u>115</u>
19	75	37	325
20	62	44	480
21	42	62	<u>1420</u>
22	75	39	470
23	85	36	270
24	65	29	410
25	70	41	260
26	80	24	175
27	75	35	415
28	85	40	290
29	75	38	310
30	61	48	470

Tabelle 16

3.7. Anwendung der subaqualen Blutungszeit

Bei 4 Patienten führten wir als Screening - Test für die Thrombozytenfunktion die subaquale Blutungszeit durch. Bei zwei Patienten wurde mit dem zählbaren Thrombozytenanstieg auch die Blutungszeit deutlich kürzer, bei einem Patienten konnte keine Verbesserung, aber auch kein Thrombozytenanstieg festgestellt werden und bei dem vierten Patienten war die Blutungszeit vor und nach Transfusion im Normbereich.

Die subaquale Blutungszeit konnten wir leider nur bei 4 Patienten durchführen, weil bei der Schwere der Krankheitsbilder (akute Leukämie, aplastische Anämie) eine sehr lange Blutung zu erwarten gewesen war. Zudem bestand bei diesen Krankheitsbildern eine nicht unerhebliche Infektionsgefahr.

Tabelle 17 zeigt die Blutungszeit vor und nach Transfusion von Thrombozyten bei den Patienten 10, 23, 28 und 29.

Pat. Nr.	Blutungszeit		Bemerkung
	vor Trans- fusion (min)	nach Trans- fusion (min)	
10	2'24"	2'25"	norm. Blutungszeit
23	10'	10'	Thrombozytenanti- körper
28	15'	6'14"	deutliche Besse- rung
29	8'30"	3'22"	deutliche Besse- rung

Tab.17

3.8. Falldemonstrationen

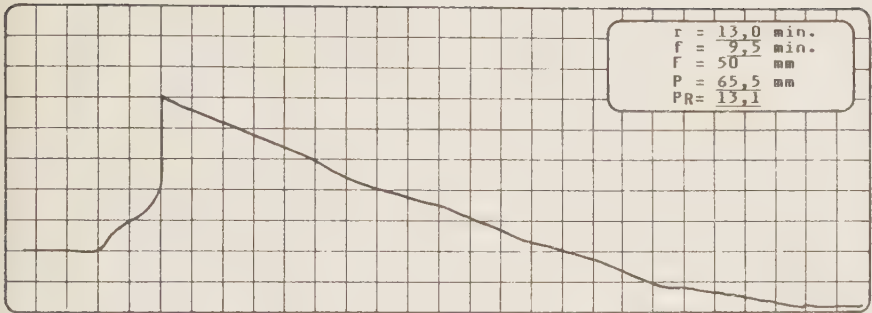
Zur Illustration der gewonnenen Meßergebnisse unserer transfundierten Patienten sollen hier die Patienten 7 und 8 dargestellt werden. Sie dienen als Beispiele für erfolgreiche Thrombozytentransfusionen.

Patient 7 zeigt vor Transfusion ein hochgradig verändertes Resonanzthrombogramm wie auch Thrombelastogramm.

(Abb. 13 und 14)

Eine Stunde nach Transfusion zeigte die RTG- und TEG-Messung eine deutliche Verbesserung der Parameter.

Patient 8, eine schwere Thrombozytopenie mit deutlicher RTG-Veränderung, aber unauffälligem TEG, wird hier vorgestellt. Nach Transfusion konnte die Verbesserung der RTG-Parameter deutlich erkannt werden, das TEG zeigt wieder einen unauffälligen Befund, obwohl die Thrombozytopenie immer noch hochgradig vorhanden war.

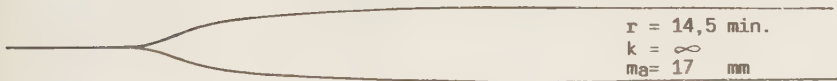


Patient: Y., B. männl.

Diagnose: malignes Lymphom (immunoblast. Typ)

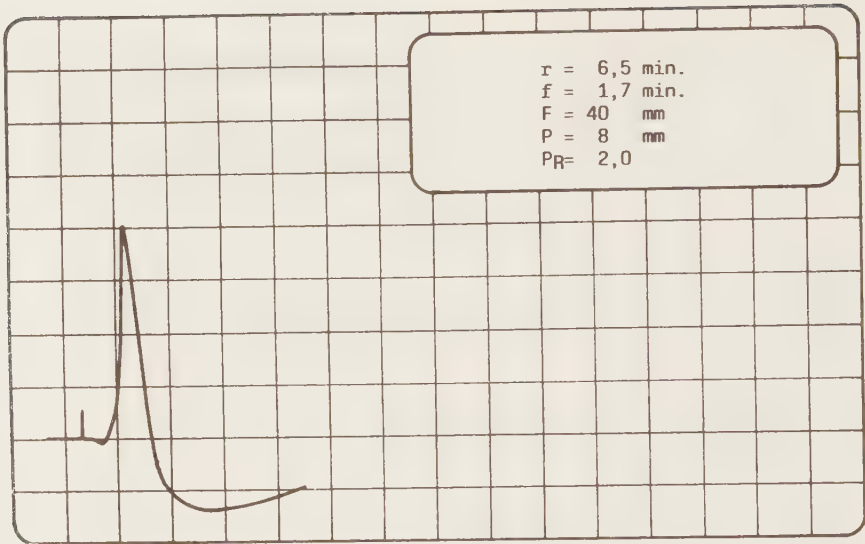
Labor: Quick 85 %
PTT 46 sec
Thrombozyten 14.000 / mm³

RTG vor Gabe von Thrombozytenkonzentraten.



TEG vor Gabe des Thrombozytenkonzentrates

Abb. 13 oben, Abb. 14 unten



Patient Y., B.

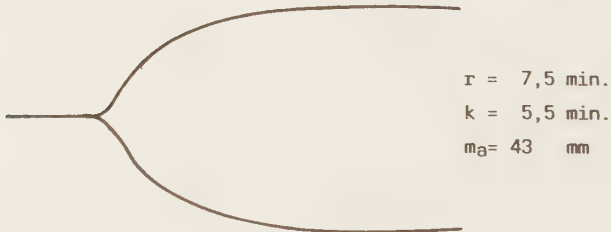
RTG nach Gabe von 3 Thrombozytenkonzentraten

Thrombozyten $104.000 / \text{mm}^3$

- deutliche Verbesserung der RTG - Thrombozytenparameter

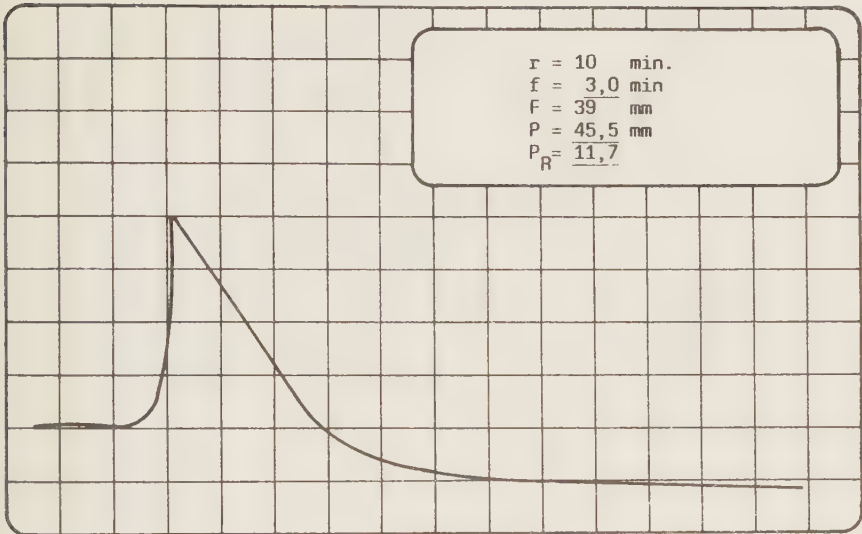
Abb. 15

Abb. 16



TEG nach Gabe von 3 Thrombokonzentraten

- deutliche Verbesserung des TEG's



Patient: R., M. weibl.

Diagnose: Akute myeloische Leukämie

Labor: Quick 89 %
PTT 46 sec
Fibrinogen 460 g/l
Thrombozyten: 28.000 / mm³

RTG vor Thrombozytengabe - typisch für Thrombopenie

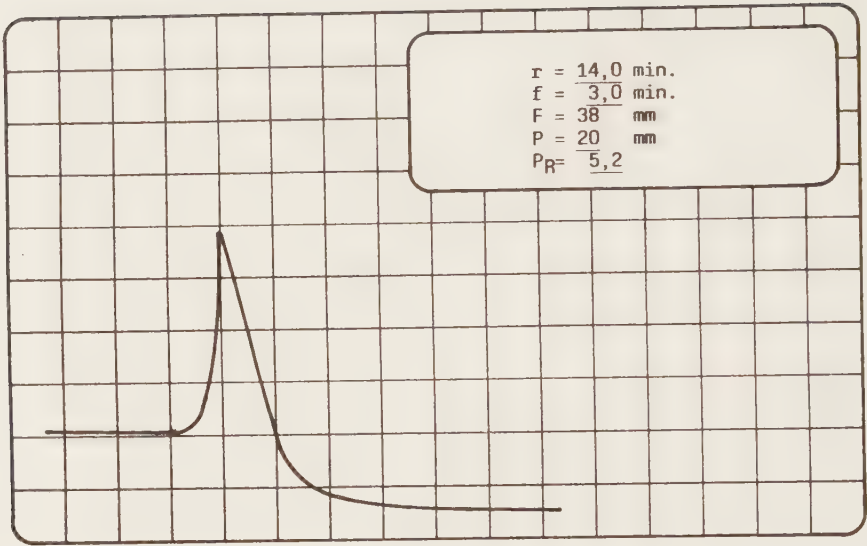
Abb. 17

Abb. 18



TEG vor Thrombozytengabe

- kein deutlich pathologischer Befund



RTG eine Stunde nach Transfusion

- Besserung der Thrombzytenparameter; 54.000 Thromboz. / mm^3

Abb. 19



Abb. 20

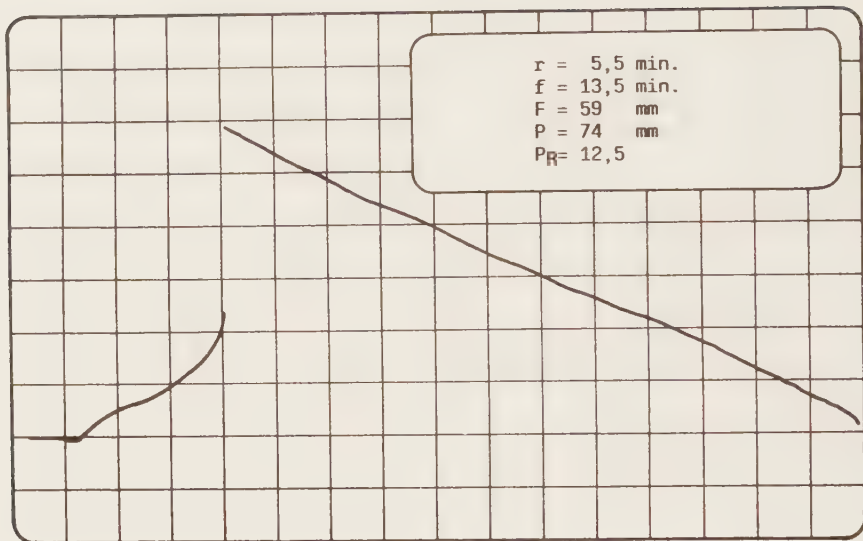
TEG nach Transfusion - keine eindeutige Besserung

In den folgenden Abbildungen ist als Beispiel für einen Transfusionsmißerfolg ein Patient unserer Meßreihe vorgestellt.

Patient 4 zeigt eine hochgradige Thrombozytopenie. RTG und TEG waren entsprechend verändert.

Die Messung nach Thrombozytengabe konnte keine Verbesserung der gemessenen Parameter erbringen.

Nachweislich lagen bei diesem Patienten, der schon zahlreiche Thrombozytentransfusionen erhalten hatte, Antikörper gegen Thrombozyten vor. (Abb.21-24)



Patient: H., J. männl.

Diagnosen: Chronische lymphatische Leukämie,
Autoimmunthrombopenie

Labor: Quick 70 %
PTT 25 sec
Fibrinogen 1,95 g/l
Thrombozyten 3.000 / mm^3

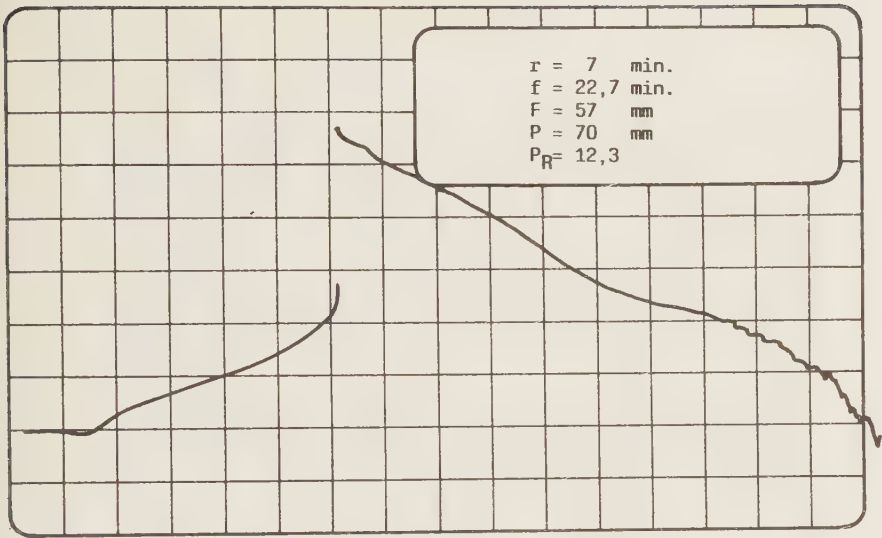
massive RTG - Veränderung im Thrombozytenschenkel

Abb. 21

Abb. 22

$r = 33 \text{ min.}$
 $k = \infty$
 $m_a = 15 \text{ mm}$

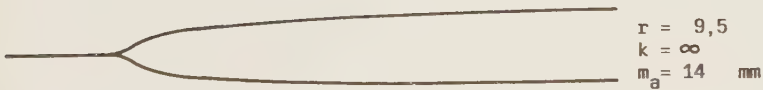
TEG vor Transfusion - deutlich im Sinne einer Thrombopenie verändert



RTG nach Transfusion - keine Besserung im Thrombozytenschenkel
 - Thrombozytenzahl unverändert!

Abb. 23

Abb. 24.



TEG nach Transfusion keine Besserung

4.

Diskussion

Die Thrombozyten spielen im Rahmen der Hämostase eine wichtige Rolle; sie sind nicht nur der wichtigste Bestandteil der sogenannten "primären Gerinnung", sondern sind auch im Zuge der plasmatischen Gerinnung, hierbei insbesondere in der Initialphase, durch Thrombozytenfreisetzungserzeugnisse beteiligt (MOCKERT) (26).

Nicht-antikoaguliertes Plasma ohne Thrombozyten gerinnt deutlich langsamer als Plasma, dem Blutplättchen wieder hinzugefügt wurden (MARKUS) (22).

Wie von MARKUS (1966) beschrieben wurde, sind isolierte Thrombozytenmembranen die stärksten gerinnungsfördernden Substanzen.

Aus diesen und anderen Gründen erkannte man, daß Thrombozyten bei hämorrhagischen Diathesen thrombozytärer Natur substituiert werden müssen. Zur Substitutionsbehandlung werden heute in der Regel Plättchenkonzentrate hergestellt und transfundiert. Technologisch stellt die Gewinnung solcher Konzentrate kein wesentliches Problem mehr dar. Meinungsverschiedenheiten bestehen noch bezüglich der Lagerung der Konzentrate. Die Mehrzahl der Transfusionszentren bevorzugt die Lagerung bei Raumtemperatur (22°C)

Bei dieser Temperatur bleiben die Funktionen der Thrombozyten, verglichen mit der Lagerung bei 4°C, besser erhalten.

Eine gute Funktion der Plättchen und eine ausreichende Thrombozytenzahl post transfusionem hängt weitgehend von der transfundierten Menge, der Anreicherungstechnik, dem Stadium der Erkrankung und der Körpergröße des Patienten ab (McCREIDIE) (25). Die Plätt-

chenausbeute ist als Plättchenanstieg pro gegebener Einheit definiert und beträgt ca. $1 \times 10^{11}/m^2$ Körperoberfläche des Patienten und liegt normalerweise zwischen 5.000 - 10.000 Thromb./mm³ eine Stunde nach Transfusion (McCREDIE) (16).

Auf Grund früherer Erfahrungen wissen wir, daß tödliche, thrombozytäre Hämorrhagien vor allem unterhalb einer Thrombozytenzahl von 20.000 Thromb./mm³ auftreten, während andererseits bei Thrombozytenzahlen von 50.000 Thromb./mm³ und darüber bedrohliche Blutungen kaum in Erscheinung traten (LEVIN) (20,24). Besonders bei akuten Hämoblastosen konnte nach den vorliegenden Studien eine drastische Senkung der Todesfälle durch thrombozytopenische Hämorrhagien (bis 50 %) nach prophylaktischer Transfusion von Plättchen erreicht werden (McCREDIE) (24,25).

Häufig sind bei Thrombozytentransfusionen auch Mißerfolge zu verzeichnen. Ursächlich dafür sind gegen die Thrombozyten gerichtete Antikörper, die nach häufigen, über einen längeren Zeitraum erfolgten Thrombozytentransfusionen entstehen (5). Klinisch kann es in Gegenwart von Antikörpern zu einer Transfusionsreaktion kommen. Die Thrombozytenüberlebenszeiten sind dann sehr kurz, erkennbar an der nicht steigenden Thrombozytenzahl (5,34). Die mangelhafte Hämostase wird unter diesen Bedingungen nicht wesentlich verbessert (YANKEE) (2,3,28).

Antikörper gegen spezifische Plättchenantigene wurden von SHULMANN (1966) mit verschiedenen Techniken nachgewiesen (31).

Man weiß, daß viele dieser Plättchenantigene, die eine Transfusionsreaktion auslösen, auch auf den Lym-

phozyten des Spenders zu finden sind. Deswegen versuchte man die Lymphozytenantigene, die im HL-A-System zusammengefaßt sind, vor einer Transfusion, sowohl bei Spender, wie auch Empfänger zu bestimmen und zu vergleichen, da man bei Übereinstimmung der Antigene mit einem Ausbleiben der Transfusionsreaktion rechnen und die sonst oft bedrohliche Blutung beherrschen konnte. (van ROOD, AMOS 2,28)

Es zeigte sich, daß HL-A kompatible Spender vor allem in der Reihe blutsverwandter Angehöriger (Eltern, Geschwister) zu finden waren. Jedoch ist die Auswahl und Herstellung solcher HL-A kompatiblen Thrombozytenkonzentrate technisch sehr aufwendig und aus diesem Grunde nicht als Routinemaßnahme durchführbar.

Um eine zuverlässige Thrombozytendiagnostik durchzuführen müßten "echte" Funktionstests, wie die Thrombozytenausbreitung (BREDDIN u. BURCK 1963), die Plättchenadhäsion (NIESSER 1972) und die Aggregation (BORN 1962) angewandt werden. Diese Methoden, die Zeitaufwand und eine adäquate Thrombozytenzahl erfordern, sind bei Thrombozytopenien nicht durchführbar.

Die R E S O N A N Z T H R O M B O G R A P H I E (6) wurde von uns mit der Erwartung eingesetzt eine unkomplizierte, zeitlich wenig aufwendige Methode zur Beurteilung des Effektes von Thrombozytetransfusionen zur Verfügung zu haben(6).

Mit der seit 1948 bekannten Thrombelastographie nach HARTERT (19) konnte eine zweidimensionale Messung der Thrombuselastizität vorgenommen und graphisch registriert werden. Diese Methode galt über viele Jahre als wichtiger Gerinnungsglobaltest, mit dem nicht nur Gerinnungsvorgänge in Sekunden gemessen werden konnten, sondern auch der Gerinnungsvorgang optisch registriert werden konnte. Bei ausgeprägten Gerinnungsstörungen,

wie einer schweren oder mittelschweren Hämophilie, sowie einer schweren Verbrauchskoagulopathie konnten mit Hilfe der Thrombelastographie eindeutig pathologische Kurven aufgezeichnet werden. Vielfach versagte jedoch die Thrombelastographie, wenn es darum ging, mildere Gerinnungsstörungen aufzudecken. Da die maximale Amplitude (m_a) sowohl von der Fibrinogenkonzentration, als auch von der Thrombozytenzahl abhängig war, war die Thrombelastographie auch nicht in der Lage, zwischen Veränderungen der Fibrinkonzentration bzw. Thrombozytenzahl zu unterscheiden (4).

Die ebenfalls von HARTERT entwickelte Resonanzthrombographie (6) benutzt gleichfalls die Elastizität des Gerinnungsthrombus' als Meßparameter. Im Gegensatz zur früheren Methode der Thrombelastographie wird im Resonanzthrombogramm durch die Anwendung der sog. Orbitalbewegung (S.17) eine dreidimensionale Scherbeanspruchung des Thrombus' für den Meßvorgang erreicht. Dieses neue Verfahren führt zu einer weitergehenden Differenzierbarkeit des so entstandenen Thrombus'. Dadurch wird eine hohe Empfindlichkeit der Methode erreicht. Neben einer Registrierung bis zu 10 mg% Fibrinogen im Testansatz ist auch eine weitergehende Trennung der Einflüsse des Fibrins von den Thrombozyten im Meßverlauf erreichbar. In der registrierten Kurve läßt sich ein ansteigender Fibrinschenkel, als Ausdruck des Aufbaus des Fibringerinnsels, von einem absteigenden Plättchenschenkel unterscheiden. Dieser absteigende Plättchenschenkel kommt durch Kondensationseffekte in der Gerinnselstruktur zustande, wie sie an und mit den Fibrinfasern überwiegend durch die spezifische Aktivität der Blutplättchen entstehen. Hierbei handelt es sich im wesentlichen um die Funktion der Retraktion, die durch plättcheneigenes Aktomyosin eingeleitet und durch Calcium-Ionen und ADP ausgelöst wird (21). Bei der

Kondensation des Gerinnsels spielt ebenfalls die Retraktion der Fibrinfasern selbst, auf einem anderen Mechanismus beruhend, eine Rolle.(26)

Für eine Reihe von angeborenen und erworbenen Gerinnungsstörungen gibt es typische Formveränderungen des Resonanzthrombogramms, die für den Erfahrenen auf den ersten Blick erkennbar und ohne Vermessung der RTG-Parameter definierbar sind. Dies konnte HILLER (1982) im "Atlas der Resonanzthrombographie" zeigen (10). Andererseits erfordern vergleichende Untersuchungen die Registrierung charakteristischer Zahlenwerte, wie sie in den Vermessungsstrecken des Muster - RTG (S.22) vorgeschlagen sind.

Für unsere Fragestellung waren die Meßparameter des Plättchenschenkels von besonderem Interesse: je kürzer die Amplitude P, desto besser ist die Plättchenfunktion; je mehr andererseits seine Länge sich jener der Amplitude F nähert, desto geringer ist die Plättchenaktivität bzw. -zahl.

Da aus den Voruntersuchungen hervorging, daß der Thrombozytenschenkel in direkter Abhängigkeit von der Thrombozytenzahl stand, erwarteten wir, daß eine erfolgreiche Thrombozytentransfusion auch zu einer größeren Steilheit des Thrombozytenschenkels und somit zu einer Verbesserung der Thrombozytenparameter führte. Wie ein Fall einer Glanzmann'schen Thrombasthenie zeigte, geht zumindestens auch die Funktion der Thrombozytenretraktion mit in den Thrombozytenschenkel ein. Trotz einer Thrombozytenzahl um $100.000 \text{ Thr./mm}^3$ lag bei der Thrombasthenie eine Kurve wie bei einer schweren Thrombozytopenie vor (S.46).

Häufig werden bei Patienten mit hämatologischen Systemerkrankungen, wie akute Leukämien, aplastische Anämien, Z.n. Knochenmarkstransplantation, wochenlang nicht-HL-A-typisierte Thrombozytentransfusionen zur Überbrückung einer Thrombopenie verabreicht. Da diese Transfusionen in der Mehrzahl der Fälle prophylaktisch, zur Verhinderung einer Blutung gegeben werden, ist eine Beurteilung des Effekts schwer möglich. Bisher gilt als mehr oder weniger zuverlässiges Verfahren der Effektivitätsbeurteilung die Zählung des Thrombozytenwertes eine Stunde nach Gabe der Transfusion.

Wir erwarteten mit der Registrierung des RTG vor und eine Stunde nach Transfusion von Thrombozyten eine Beurteilung des Effekts, der durch die Mitwirkung der Thrombozyten an der Fibrinretraktion über die reine Thrombozytenzählung hinausgeht. Auf diese Weise hofften wir, dokumentieren zu können, ob eine Thrombozytentransfusion erfolgreich oder wahrscheinlich für den Patienten ohne erkennbaren Vorteil ist. Häufigste Ursache eines Mißerfolges einer Thrombozytentransfusion sind Antikörper (34), die aufgrund von Vortransfusionen gegen die transfundierten Thrombozyten gerichtet sind. Auch länger dauernde, hochfieberhafte Zustandsbilder, sowie Splenomegalie sind Ursachen eines ungenügenden Thrombozytenanstiegs nach Transfusion (25,34). Viele Pharmaka erzeugen bei chronischer Anwendung Thrombozytenfunktionsstörungen, als Ausdruck einer Interaktion. Bei zwei Patienten unseres Kollektivs, die wegen einer aufgetretenen Pilzsepsis intravenös mit Amphotericin B, einem Antimykotikum, behandelt wurden, lag die Ursache für den Transfusionsmißerfolg möglicherweise in dieser Therapie begründet. KULPA (1981) hatte diese Nebenwirkung des Medikaments beschrieben (17).

Die bei 30 Patienten durchgeführten Verlaufkontrollen zeigten, daß sich bei 80% der Patienten die Plättchenparameter des Thrombozytenschenkels im Resonanzthrombogramm deutlich besserten, während bei 20% der Patienten eine Besserung ausblieb. Diese Besserung des Plättchenschenkels ging in den meisten Fällen auch mit einer Erhöhung des Thrombozytenwertes (P_R) eine Stunde nach Transfusion einher. Hingegen war das gleichzeitig geschriebene Thrombelastogramm nicht empfindlich genug, um die im RTG registrierten Veränderungen aufzuzeigen. Zu dieser Erfahrung gelangte auch BUDDE (1981)(4).

Erwartungsgemäß führten die Thrombozytentransfusionen zu keinen Veränderungen der anderen gemessenen Gerinnungsglobaltests.

Idealerweise müßte die Effektivität einer Thrombozytentransfusion durch Registrierung der Blutungszeit vor und nach Beendigung der Transfusion überwacht werden. Die Blutungszeit ist nach wie vor der beste Gerinnungsglobaltest zur Erfassung aller Thrombozytenfunktionen. Wegen der extremen Thrombozytopenie kann es jedoch zu langen, den Patienten belästigenden und gefährdenden Blutungen aus der Inzision kommen, gleichzeitig muß auch an ein Infektionsrisiko durch die meist ebenfalls vorhandene Granulozytopenie gedacht werden. Aus diesem Grunde wurde im Rahmen dieser Untersuchung auch nur an 4 Patienten die Blutungszeit vor und nach Transfusion der Thrombozytenkonserven registriert.

Unter den gegebenen Umständen bietet sich die Resonanzthrombographie als mögliche, wenn auch nicht optimale Methode zur Überwachung von Thrombozytentransfusionen an. Es wird ein Blutvolumen von weniger als 1ml Zitratvollblut benötigt, das Verfahren ist einfach und nicht zeitaufwendig, das Testergebnis steht in der Regel nach 30 Minuten zur Verfügung. Die Aufzeichnung des Resonanzthrombogramms bietet Vorteile gegenüber der reinen

Thrombozytenzählung nach Transfusion, da zumindestens ein Teil der Thrombozytenfunktionen in die registrierte Gerinnungskurve mit eingeht und somit eine Aussage über den Beitrag der Thrombozyten zur Gerinnselbildung möglich ist.

5.

Zusammenfassung

Thrombozytentransfusionen werden seit Ende der sechziger Jahre in großem Umfang zur Therapie und Prophylaxe von thrombozytopenisch bedingten Blutungen angewandt.

Da die Transfusionen klinisch nicht immer zu einer Verbesserung der Hämostase führen, ist es wünschenswert den Erfolg oder Mißerfolg zu beurteilen. Die Thrombozytenzählung berücksichtigt dabei nicht die Thrombozytenfunktion; andere Verfahren sind meist wegen des Aufwandes nicht durchführbar.

Uns stand seit 1980 eines der ersten Geräte des Resonanzthrombographen nach HARTERT zur Verfügung. Mittels einer neuen physikalischen Meßmethode können die Eigenschaften eines sich bildenden Blutgerinnsels gemessen werden. Hierbei wurde die entsprechende Resonanzschwingung einer auf das Gerinnsel einwirkenden Anregungsschwingung graphisch aufgezeichnet und zur Beurteilung herangezogen.

Parallel zu etablierten Methoden, wie der Thrombozytenzählung, der Thrombelastographie und in wenigen Fällen auch der Blutungszeit untersuchten wir nach Vorversuchen, die den Einfluß der Thrombozyten auf das Resonanzthrombogramm zeigten, 30 Patienten unserer Klinik mit schweren Thrombozytopenien aufgrund von Leukämien, aplastischen Anämien und auch nach zytostatischer Therapie.

Wir konnten in den angefertigten Resonanzthrombogrammen mit hoher Zuverlässigkeit die durch die Thrombozytopenie bedingten Kurvenveränderungen erkennen und auch im Verlaufe der Therapie die Verbesserung durch Transfusion oder die fehlende Verbesserung dokumentieren.

Der Vergleich mit der Thrombelastographie zeigt deutlich die höhere Empfindlichkeit der Resonanzthrombographie für den durch Thrombozyten bedingten Kurventeil.

Zum Ausschluß störender Interaktionen wurden die plasmatischen Gerinnungsparameter bestimmt. Die Korrelation mit der subaqualen Blutungszeit konnte aus klinischen Gründen nur bei vier Patienten durchgeführt werden.

Aufgrund der Verbesserung der Meßparameter im Resonanzthrombogramm kann bei 80% der durchgeführten Transfusionen von einem Erfolg gesprochen werden. Bei 20% der Thrombozytentransfusionen kam es zu keiner entsprechenden Verbesserung der meßbaren Thrombozytenparameter. Wir müssen davon ausgehen, daß bei diesen Patienten antithrombozytäre Antikörper die Ineffektivität der Transfusion bedingen.

Obwohl die Resonanzthrombographie durch zeitliche Trennung von plasmatischen und thrombozytären Gerinnungsvorgängen für unsere Fragestellung bedeutungsvoll war, ist einschränkend festzustellen, daß nicht global alle Thrombozytenfunktionen, sondern wahrscheinlich nur die Retraktion erfaßt wurde.

6. Literaturverzeichnis

1. ABDULLA, W., FREY, G., WITZKE, G.: Bluttransfusion und Blutgerinnung, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York, 52-54 (1979)
2. AMOS, D.B., HATTLER, B.G. Jr.: Present Status of Leucocyte and Tissue Typing, Advances Surg. 2, 157-197 (1966)
3. ASTER, R.H., LEVIN, R. H., COOPER, R.H.: Complement-fixing Platelet Antibodies in Serum of transfused Persons; Correlation of Antibodies with Platelets survival in Thrombozytopenic Patients, Transfusion 4, 428-440 (1964)
4. BUDDE, U.: Resonanzthrombogramme bei thrombozytären Erkrankungen; in: Verhandlungsbericht der 25. Tagung der Dt. Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnung, Schattauer, Stuttgart/New York, 483-486 (1981)
5. DALY, P.A. et al.: Platelet Transfusion Therapie, JAMA 243, 435-438 (1980)
6. HARTERT, H.: Resonance-Thrombographie, theoretical and practical elements, Biorheologie 18, 693-701 (1981)
7. HARTERT, H.: Resonanzthrombographie, die Untersuchungsmethode der eigentlichen Blutgerinnung; in: Verhandlungsbericht der Dt. Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnung, Schattauer, Stuttgart/NewYork, 477-482 (1981)
8. HARTERT, H.: Methodik der Resonanzthrombographie (1982)

9. HEENE, D.L. u. LASCH, H.G.: Hämorrhagische Diathesen;
in: Innere Medizin, v. Kühne und Schirmeister, Springer
Verlag Stuttgart/ New York 528 (1982)
10. HILLER, E.: Atlas der Resonanzthrombographie, Verlag
Hygieneplan GmbH, (1982)
11. HILLER, E., SCHAAL, T.: Der Einfluß der Thrombozyten auf
das Resonanzthrombogramm; in: Verhandlungsbericht der
25. Tagung der Dt. Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnung;
Schattauer, Stuttgart/New York, 487-491 (1981)
12. HILLER, E., SCHAAL, T., RIESS, H.: Die Beurteilung der
Effektivität von Thrombozytentransfusionen mit der Re-
sonanzthrombographie (Abstract), Onkologie 4, 249 (1981)
13. HIEMEYER, V., RASCHE, H., DIEHL, K.: Hämorrhagische
Diathesen, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 191 (1972)
14. KEYNES, G.L.: Blood Transfusion, Bristol (1949)
15. HUESTIS, D.: Platelet Collection and Quality Controll;
in: LISTER, T.A., Platelet Transfusion, London, MTP Press
Ltd., Lancaster England, 11-19 (1980)
16. KREUTZ, H., OSTERWALDER, H.J.: Die Herstellung von
Thrombozytenpräparaten: Bedeutung der Qualitätskontrolle;
Schweiz. med. Wschr. 107, 1460 (1977)
17. KULPA, J., ZAROULIS, C.G., GOOD, R.A. and KUTTI, J.:
Altered Platelet Function and Circulation induced by
Amphotericin B in Leucemic Patients after Platelet Trans-
fusion; Transfusion 1, 21, 74-76 (1981)
18. LECHNER, K.: Laboratoriumsdiagnose hämatologischer Er-
krankungen 2, Blutgerinnungsstörungen; Springer Ver-
lag Stuttgart/New York, 178-179 (1982)

19. LECHNER, K.: Laboratoriumsdiagnose hämatologischer Erkrankungen 2 , Blutgerinnungsstörungen, Springer Verl. Stuttgart/New York, 173-177 (1982)
20. LEVIN, R.H., PERT, J.H. a. FREIREICH, E.J.: Response to Transfusion of Platelet pooled from multiple Donors and the Effects of various Technics of Concentrating Platelets, Transfusion 5, 54-60 (1965)
21. LÜSCHER , E.F.: Die intrazelluläre Regulation der Plättchenaktivität; Arzneim.-Forsch./Drug Res.,33 (II) 9a, 1362-1364 (1983)
22. MARKUS, A.J.: Platelet Function, N. Engl. J. Med. Medical Progress, 280, 22, 1213-1220 (1969)
23. MARKUS, A.J.: Platelet Function, N. Engl. J. Med. 280, 23, 1278-1284 (1969)
24. MARKUS, A.J.: Platelet Function, N. Engl. J. Med. 280, 24, 1330-1335 (1969)
25. McCREDIE, K.: Clinical use of Platelet T ansfusion in Acute Leucemia; in: LISTER,T.A.,Platelet Transfusion, MTP Press Ltd., Lancaster, England, 39-44 (1980)
26. MOCKERT, TH. Jr.: The Platelet in Hemostasis; Med. Seminar, Minnesota Medicine 51, 815-820 (1968)
27. MOLLISON, P.L.: Blood Transfusion in Clinical Medicine Oxford University Press, Oxford, (1956)
28. ROOD, van J.J.: The Detection of Transplantation Antigens on Leucocytes, Seminars Hematology 5, 187-214 (1968)

29. SCHARF, R.E. u. SCHNETDER, W.: Biologische, pathophysiologische und klinische Aspekte der Plättchensekretion; *Arzneim--Forsch./Drug Res.* 33(II), Nr. 9a, 1384-1390 (1983)
30. SHATTIL, S.J., BENNETT, J.S.: Platelets and their Membranes in Hemostasis, Physiology and Pathophysiology; *Ann. Int. Med.* 94, 108-118 (1981)
31. SHULMANN, N.R.: Immunological Considerations attending Platelet Transfusion; *Transfusion* 6, 39-49 (1966)
32. WEISS, H.J.: Platelet Physiology and Abnormalities of Platelet Function; *N. Engl. J. Med.*, 11, 531-541 (1975)
33. WRIGHT, J.H.: The Origin and Nature of the Blood Plates; *Med. Surg. Jour.* 154, Boston, 643 (1906)
34. YANKEE, R.A. M.D., GRUMET, F.C., M.D. and ROENTINE, G.N.: Platelet Transfusion-Therapy: The Selection of compatible Platelet Donors for Refractory Patients by Lymphocyte HL-A Typing; *N. Engl. J. Med.* 281, 22, 1208-1212 (1969)

Lebenlauf

Am 12. Februar 1954 wurde ich, Sven Tomas Schaal, als erster Sohn des Pharma-Kaufmanns Kurt Rolf Schaal und seiner Ehefrau Siglinde, geborene Liebing, in Hamburg geboren.

Im Jahre 1960 trat ich in die Volksschule in Frankfurt a. Main ein, hier wechselte ich dann 1965 auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Wöhler-Gymnasium über. Im Jahre 1967 übersiedelte ich mit meiner Familie nach Nürnberg, wo ich 1974 am mathematisch-naturwissenschaftlichen Hans-Sachs-Gymnasium das Abitur ablegte.

Von 1974 bis 1976 leistete ich bei der Deutschen Bundeswehr Militärdienst. Von 1976 an besuchte ich die städtische Krankenpflegeschule in München. Im Wintersemester 1977/78 erlangte ich die Zulassung zum Medizinstudium. Im März 1980 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung; im März 1981 legte ich den ersten Teil und im März 1983 den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab. Schließlich konnte ich am 5. April 1984 den schriftlichen und am 14. Mai 1984 den mündlichen Teil des Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung erfolgreich abschließen.

Am 16. Mai 1984 erhielt ich die Ärztliche Approbation. Im August 1984 konnte ich die ärztliche Weiterbildung in der Augenklinik der Universität München aufnehmen.

Am 14. 5. 1982 heiratete ich die Arzthelferin Gabriele Diez. Unsere Tochter Isabelle wurde am 13. 10. 1982 geboren.

